

5
24



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGIA**

**" DESNUTRICION PRENATAL Y REHABILITACION
NUTRICIONAL POSNATAL EN EL NUCLEO RAPE
DORSAL DE LA RATA "**

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 :

ALFONSO BENITO ALFARO RODRIGUEZ

**ASESOR: DR. LEON F. CINTRA McGLONE
INVESTIGADOR TITULAR**

MEXICO, D. F.

AGOSTO DE 1991.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

RESUMEN	I
INTRODUCCION:	
Funciones de la serotonina (5-HT) ..	1
Localización del NRD	2
El NRD	4
La Desnutrición	5
Rehabilitación nutricional	12
OBJETIVOS	15
HIPOTESIS	16
MATERIAL Y METODOS	
Animales, Tratamiento nutricional ..	17
Cruzas y Camadas	18
Técnicas Histológicas.....	19
Mediciones morfométricas	20
Análisis Estadístico	21
RESULTADOS	
I. Observaciones cualitativas de las células del núcleo rafe dorsal NRD	22
II. Observaciones cuantitativas de las células del NRD.....	22
Células Fusiformes	23
1. Efectos significativos por la dieta en las células fusiformes.....	23
2. Efectos estadísticamente significativos por la edad en las células fusiformes del núcleo rafe dorsal, NRD....	24
Células Multipolares	25
1. Efectos significativos por la dieta en las células multipolares.....	25
2. Efectos estadísticamente significativos por la edad en las células multipolares del núcleo rafe dorsal, NRD....	27
Células Ovoides	28
1. Efectos significativos por la dieta en las células ovoides....	28
2. Efectos estadísticamente significativos ocurridos por la edad en las células ovoides.	30
DISCUSION	31
CONCLUSIONES	
I. Efectos producidos por la desnutrición prenatal.....	36
II. Efectos producidos por el factor edad.....	37
BIBLIOGRAFIA	38

RESUMEN:

En el presente estudio se utilizaron ratas macho de 15, 90 y 220 días de edad rehabilitados nutricionalmente desde el día de su nacimiento. Estos animales procedieron de hembras que fueron desnutridas con una dieta del 6% de caseína, 5 semanas antes del apareamiento y durante la gestación. Al nacimiento las crías fueron alimentadas por madres nodrizas normales nutridas con una dieta de 25% de caseína (control). Lo que produjo una rehabilitación nutricional desde el momento del nacimiento. Posterior al destete los animales continuaron consumiendo la dieta control hasta las edades de 15, 90 y 220 días en las que fueron sacrificadas. Para el estudio morfométrico se emplearon bloques de 4mm de grosor del tallo cerebral que contenían el núcleo rafe dorsal, de 10 ratas normales y 10 desnutridas de cada edad los cuales fueron procesados con la técnica de Golgi rápido. Analizamos un total de 540 células: 30 fusiformes, 30 multipolares, 30 ovoides de cada edad y grupo experimental; normal y rehabilitado. Se efectuaron las siguientes mediciones: 1) tamaño del soma y 2) número de espinas dendríticas en segmentos mediales de 50 micrones de dendritas primarias y secundarias. Los datos se analizaron con una prueba estadística de ANOVA y las diferencias significativas encontradas por la edad, fueron después analizadas con la prueba de U de Mann-Whitney. Los resultados se dividieron en los efectos producidos por la dieta y los efectos encontrados en los animales entre las edades (15, 90 y 220). La dieta hipoproteínica de 6% de caseína produjo incrementos significativos en el eje mayor y reducciones significativas en el eje menor del soma en las células multipolares. En los animales rehabilitados, los tres tipos celulares mostraron incrementos en la densidad de las espinas en ambas dendritas primarias y secundarias. La dieta de 6% produjo alteraciones significativas a largo plazo en el tamaño de las células multipolares que se sabe, son productoras de serotonina en el tallo cerebral de la rata y el aumento observado en el número de las espinas en el NRD en los tres tipos celulares tres tipos celulares, indicaría cierta plasticidad estructural de las células ovoides y fusiformes, congruente con los aumentos en el número de sinaptogenesis encontrado en animales rehabilitados nutricionalmente en otras estructuras como el hipocampo.

INTRODUCCION

La indolamina, 5-hidroxitriptamina (5-HT) o serotonina, fué descubierta en 1933 por Vially y Erspamer en las células granulares de la mucosa gastrointestinal, más tarde en 1953, Twarog y Page la identificaron en el Sistema Nervioso Central (SNC) de los mamíferos. El nombre de serotonina se debe a los estudios de Rapport ('49), quién la aisló de la sangre, relacionándola con algún factor del suero debido a que producía vasoconstricción y Reid y Rand ('52) demostraron su presencia en las plaquetas.

Funciones de la serotonina (5-HT):

Por diversos estudios experimentales se sabe que la serotonina se involucó en la regulación de funciones como la memoria, el aprendizaje, el sueño y el movimiento (Azmitia y Gannon '86). En el humano las alteraciones en el mesencéfalo, incluyendo el núcleo rafe dorsal (NRD) principal formador de serotonina, se manifiestan en disfunciones como la enfermedad de Alzheimer (Cursio y Kemper, '84) y el Parkinson (Jelliger '86 y Zweig y cols., '86).

Los estudios fluorométricos de Bogdansky, / cols., en

1956, demostraron que la 5-HT, tiene una distribución diferente en el SNC. Estos autores encontraron altas cantidades de 5-HT en el mesencéfalo y en el hipotálamo, y estas observaciones permitieron concluir su posible papel de neurotransmisor dentro del SNC.

La 5-HT, es sintetizada a partir del aminoácido L-triptofano e hidrolizada por una enzima específica, la triptofano-hidroxilasa, el producto intermedio es el L-5-hidroxitriptofano, el que descarboxilado pasa a 5-HT. Según los estudios de Iversen ('76), la 5-HT es un neurotransmisor primero porque se almacena en las neuronas, segundo porque puede obtenerse de la terminal presináptica después de una estimulación en el tejido nervioso, en donde el neurotransmisor es vertido por exocitosis. La substancia es inactivada una vez que se ha vertido y sus efectos pueden ser bloqueados por los antagonistas específicos.

Localización del núcleo rafe dorsal (NRD).

En el cerebro humano se le localizó como el núcleo supracoclear por los estudios de Olszewski y Baxter en 1954, constituido por neuronas oscuras en la tinción de Nissl, Braak en 1970, lo correlacionó en el cerebro medio de animales como el núcleo rafe dorsal del tallo cerebral y en los primates Azmitia y Gannon ('86), han analogado al

sistema serotoninérgico con el del humano.

Según los estudios de fluorescencia de Dahlström y Fuxe ('84) en el cerebro de la rata, la serotonina se localiza en neuronas extensamente repartidas en el tallo cerebral e identificadas como monoaminérgicas. Por medio del método de formaldehído el cual induce fluorescencia, estos autores describen a las células serotoninérgicas como el grupo B1 al B9 en una distribución caudo-rostral. Desde entonces y a la fecha, numerosos estudios utilizando fluorescencia e inmunocitoquímica, han permitido el mejor estudio de la distribución de las células serotoninérgicas en el tallo cerebral de la rata y al mismo tiempo se sabe, que su distribución no varía a lo largo de la escala filogenética de mamíferos vertebrados (Petrovicky, '80 a,b), así como la distribución de las vías en el sistema nervioso (Felten y Sladek '88).

Por diversos estudios realizados en rata gato y conejo por Brodal y cols. ('60), Taber '61, Felten y Cummings y Felten y Harrigan ('80a,b) se sabe que la 5-HT se distribuye en los núcleos serotoninérgicos cuya organización caudo-rostral se identifican como el núcleo rafe dorsal (NRD), núcleo medial del rafe (NMR), núcleo rafe pontis (NRP), núcleo rafe magnus (NRM), núcleo rafe obscurus (NRO), y núcleo rafe pallido (NRP).

El núcleo rafe dorsal (NRD).

Se le identifica como el grupo B7, B5 y B4), según la clasificación de Dalhström y Fuxe ('68) siendo el principal formador de serotonina en el SNC. El NRD, se extiende en su polo caudal, desde el complejo oculomotor del puente, y en su porción rostral limita con la substancia gris periventricular. Todo el NRD corre dorsal a los fascículos longitudinales mediales del tallo cerebral (Azmitia, '78, y Tork, '85).

La mayor población celular se localiza en el mesencéfalo y en material impregnado con Golgi, Danner y Pfister '80, y Pfister y Danner '81 y Díaz-Cintra y cols., '81, han identificado 3 tipos celulares en el NRD. Tipo 1 neuronas poligonales en forma y multipolares por la presencia de dendritas, cuyos axones se dirigen ventralmente. Neuronas tipo 2, o fusiformes, con dendritas en sus extremos y espinas en las porciones distales de las mismas y cuyos axones corren en sentido dorsal y tipo 3 neuronas pequeñas, ovoides de forma piriforme, con pocas espinas. Se les han identificado en otros núcleos del rafe (Holzter y Pfister '81). Sin embargo, no todas las células del NRD contienen serotonina Wiklund y cols., ('81), han demostrado en el tallo cerebral del gato que solo un 40% produce 5-HT, de manera similar se encuentra esta proporción en la rata

(Moore, '81). En un estudio autorradiográfico, Descarries y cols., ('79) reportaron que de las 24,000 células del NRD, solamente 11,500 (casi el 48%) son serotoninérgicas. Sin embargo cabe aclarar que el contenido de serotonina en el NRD, constituye la mitad de toda 5-HT del SNC. La 5-HT no es el único neurotransmisor encontrado en el NRD, también se han aislado la dopamina beta hidroxilasa, noradrenalina, (Grzanna y Molliver, '80, Steinbusch y cols., '81), GABA (Belin y cols, '79) y péptidos, como encefalinas (Glazer y cols., '81), sustancia P (Chan-Palay y cols., '78), Neurotensina (Jennes y cols., '82).

La desnutrición:

La desnutrición, es un factor importante en las en las poblaciones a nivel mundial, siendo los países en desarrollo el principal foco de ésta, aunque también se encuentra en las regiones industrializadas (Chandra, '80). Por ser la desnutrición un problema común en los países en desarrollo, podemos decir que se convierte en un problema social de primer orden, afectando a la población de bajos recursos de un modo directo desde su base alimenticia familiar. Teniendo como, la causa principal la pobreza, siendo este factor el que más contribuye a la desnutrición. Como factor aditivo está el hecho de que una parte significativa de la población se dedica a actividades

primarias, como la agricultura, que tienen muy poco rendimiento económico. La ignorancia coadyuva a que se incremente el problema de la desnutrición sobre todo en los países Latinoamericanos, del Africa septentrional y del sur de Asia, países con grandes problemas socio-políticos y con pocos recursos económicos. El efecto de estos factores se ha reflejado tanto en problemas de salud pública como en problemas de asimilación y de aprendizaje.

Es la desnutrición calorica-proteinica, el punto de partida de muchos estudios e investigaciones por ser el modelo que replica al marasmo en los humanos. González, R. ('87) propone que "La desnutrición energético-proteinica es un estado patológico de etiología social que se presenta como consecuencia de la falta de ingestión de la cantidad suficiente de los alimentos que contienen los nutrimentos requeridos por el organismo para el adecuado crecimiento, desarrollo, y funcionamiento de sus organos y sistemas". Como consecuencia de esta, existen varios daños y alteraciones en los mismos, como es el caso del sistema inmunológico o daños psicológicos y neurológicos etc. Es por esto que existe un interés creciente por investigar éstas alteraciones y darle así énfasis a programas de índole informativa que puedan de algún modo orientar a la población en un mejor consumo de los alimentos, como también impulsar la medicina preventiva entre otras. Este problema ha

llevado a muchos investigadores a estudiar estos daños y alteraciones que afectan al organismo por medio de varios modelos biológicos experimentales, según el área.

El estudio del SNC a sido un campo muy amplio de investigación, desde el siglo XIX. Según Bernal ('79), gracias a los trabajos de Bell (1774-1842) y de Magendie (1785-1855), sobre la acción integrativa del sistema nervioso, se llegó a comprender la función que desempeñan los nervios, tanto para la recepción de mensajes de los órganos de los sentidos como para el envío de señales a los músculos, y se pudieron conocer muchas de las conexiones existentes en el complejo sistema nervioso. Es por ésto que se empiezan a hacer estudios comparativos tomando como modelos biológicos a los animales. Es a la par también que empieza el interés sobre el efecto que causa la desnutrición en el ser humano. No fue si no hasta los estudios de Sugita ('17) cuando se hace un estudio sistemático más formal sobre los efectos de la desnutrición en el desarrollo cerebral de las ratas, aunque con algunas deficiencias, como el no tener un control adecuado, el número de animales manejados, etc. No obstante los resultados arrojaron nuevos indicios respecto a las alteraciones que sufre el cerebro bajo condiciones de desnutrición, abriendo así una nueva línea de investigación en el campo de la morfofisiología. Siguieron a este estudio varias investigaciones relacionadas

principalmente a la desnutrición durante el periodo de la lactancia. Es así como Dobbing ('71), propone el concepto de "periodo crítico", esto es, cuando el cerebro sufre un rápido crecimiento, que ocurre en todas las clases de mamíferos y eventualmente en todo el cuerpo del animal, existiendo sin embargo, diferencias entre especies del momento en el cual sucede el periodo crítico en relación con el nacimiento y corresponden con los picos de acumulación de DNA y mielina. Lo anterior es importante porque establece un periodo de vulnerabilidad durante el desarrollo del organismo. La idea de que los organismos pueden ser particularmente vulnerables en ciertos tiempos no es nueva y es el fundamento de la teratología. El cerebro presenta un tipo de vulnerabilidad tardía, relacionada con su periodo crítico y ciertamente existe para el desarrollo físico del cerebro y eventualmente para el desarrollo conductual. Un daño en este periodo puede ocasionar secuelas permanentes e irreversibles. Según Cravioto y Arrieta ('85) la importancia de esta etapa es muy grande, porque da lugar a la consideración de una patología del desarrollo cerebral en la que el tiempo en que actúan los factores etiológicos en relación al periodo de impulso del crecimiento cerebral, teniendo mucha mayor importancia que la intensidad y duración de la agresión. De esta manera, restricciones moderadas de crecimiento somático, de alta prevalencia en poblaciones humanas, si se presentan durante esta fase de

aceleración del crecimiento cerebral, dan por resultado modificaciones estructurales y/o funcionales permanentes.

También se ha observado en otros estudios que animales severamente desnutridos muestran retraso en la aparición y desarrollo de patrones locomotores y de comportamiento. Salas ('71), mostró que la desnutrición crónica, afecta la maduración del substrato neuronal que controla al complejo neuromuscular para los mecanismos adaptativos involucrados en el nado. Además se refuerza la idea de que la desnutrición es uno de los factores ambientales externos, que interactúan con el crecimiento neuronal de la vida postnatal temprana, afectando los patrones de desarrollo del SNC.

Por otra parte, los estudios de los potenciales evocados como indicadores de la alteración nerviosa central por la desnutrición perinatal, Salas, M. y Cintra, L. ('74), han mostrado que la desnutrición temprana afecta el desarrollo de ambos sistemas talamocorticales de proyección, específicos y no específicos. En este estudio, los resultados preliminares indican que las ratas adultas desprovistas de alimento durante la infancia temprana, exhiben menos variabilidad en los componentes secundarios de sus respuestas evocadas. También manifiestan menos conducta exploratoria y de orientación en su ambiente nuevo, cabe

decir que también el aislamiento afecta más a los animales desnutridos en este caso a la rata. Estos estudios son muestra de lo que se observa en los niños sometidos a un ambiente aislado de estímulos sensoriales, presentando además una serie de deficiencias en relación con su entorno social, como falta de comunicación y dificultad para integrarse como grupo social.

Son numerosos los estudios que existen en la literatura acerca de lo que ocurre en el sistema nervioso central a nivel bioquímico por los efectos que produce la desnutrición. Sobotka y cols., '74), en sus estudios sobre desnutrición neonatal, encontraron que la desnutrición perinatal provoca deficiencias a largo plazo, medidas por las alteraciones en la función y la composición química cerebral, existiendo además disminuidos tanto el tamaño celular como la mielinización y crecimiento dendrítico neuronal, manifestándose como un retardo en el desarrollo cerebral. Como consecuencia hay efectos en el comportamiento con incremento en la agresividad y en la carga emocional en respuesta a condiciones de estrés, disminuyendo la conducta exploratoria y la eficiencia de aprendizaje.

Se sabe que el SNC, se ve afectado en su contenido de neurotransmisores como las aminas biogénicas, Stern y cols., ('75), concuerdan con que la desnutrición

proteínica hace que las aminas como la serotonina, norepinefrina y ácido 5 hidroxil- indol acético, aumentan en el cerebro. La distribución regional del aumento de los niveles indoles en la rata desnutrida confirma lo reportado por Sobotka y cols., '74. Por su parte, Hernández '76 describe que los cambios en la concentración de 5-HT en cerebros de ratas desnutridas pueden ser secundarios a las alteraciones en la disponibilidad de sustratos para su síntesis. El nivel plasmático de triptofano libre determina la concentración de triptofano cerebral y la síntesis de serotonina. Entonces es posible que la desnutrición crónica provoque cambios similares con la concentración cuando el contenido de serotonina se expresa como tal y no en gramos sobre el peso cerebral. Miller y cols., '77 han reportado que los niveles tanto de aminas como de catecolaminas se encuentran incrementados en los animales desnutridos a lo largo de su vida. En otros estudios determinaron que las concentraciones totales y libres del triptofano plasmático para animales a diferentes porcentajes de dieta mostraron que el grupo control tuvo significativamente elevado el triptofano total al compararlo con el grupo desnutrido, solamente al día 0, cuando las ratas desnutridas tuvieron niveles más elevados. Miller y cols., ('78) y Shoemaker y Wurtman '71, han encontrado aumento en las catecolaminas de los animales desnutridos.

Rehabilitación nutricional.

Considerando los efectos causados por la desnutrición en etapa temprana, se ha investigado también lo que pasa cuando hay rehabilitación alimenticia postnatal, para comparar con animales normales las posibles alteraciones y daños causados por una desnutrición prenatal. El cerebelo, es una de las estructuras que sufren cambios por la desnutrición en las células de Purkinje (McConel y Berry '78 y Warren y Bedi '87), y reducción del número de células granulares. Barnes y Altman (73), también señalan reducción significativa en las capas granulosas externa e interna del cerebelo de rata. Es claro que la desnutrición, principalmente en la etapa prenatal y en la vida temprana produce efectos que alteran el desarrollo normal del SNC. Se han citado algunos trabajos que han estudiado estas alteraciones en las diferentes estructuras del cerebro y del SNC. Todos estos estudios se han realizado utilizando desnutrición posnatal y se ha encontrado en algunas estructuras del SNC daños que persisten a pesar de rehabilitación nutricional adecuada. Es el caso del trabajo hecho por Sima y Sourander ('78), sobre el efecto de la desnutrición pre y postnatal sobre el crecimiento axonal y la mielinización de las fibras motoras centrales encontrando deficiencia en el crecimiento axonal tanto como de la mielinización en el tracto cortical de la rata. Efectos similares fueron reportados por Wiggins y cols.,

('76), en animales rehabilitados nutricionalmente. Lewis y cols., ('74), encontraron que la actividad mitótica en la capa granular externa se ve incrementada en las ratas desnutridas de 21 días así como la síntesis de DNA se prolonga. Estas alteraciones tanto a nivel químico como morfológico se dan en diferentes parámetros, es así como vemos que por una parte la desnutrición causa en algunos casos incrementos y en otros reducción el metabolismo del SNC.

Dentro de los modelos actuales para el estudio de la desnutrición aparecen los trabajos de Morgane y cols., ('78), y Resnick y cols., ('79) en los cuales se implementan dietas bajas en proteína, para valorar los efectos de la desnutrición sobre el desarrollo del SNC. Este modelo ha permitido estudios electrofisiológicos con desnutrición pre y posnatal (Bronzino y cols., '90), conductuales y de desarrollo neuronal (Stern y cols., '78 a y b y West y Kemper, '78) y anatómicos (Díaz-Cintra, y cols., 81a,b,c,y d y Cintra y cols., '82 y '91), en diferentes regiones del SNC de la rata. Al mismo tiempo el control de las dietas con contenido de 6% de caseína se han utilizado para producir solo la desnutrición prenatal. Díaz-Cintra y cols., '91 y Cintra y cols., '90 han estudiado la rehabilitación nutricional desde el momento del nacimiento en ratas desnutridas prenatalmente con una dieta del 6% de caseína,

los estudios indican efectos a largo plazo sobre la morfología de poblaciones celulares como del giro dentado en el hipocampo de la rata de 3 edades (15, 90 y 220 días) tomando en consideración el desarrollo en la maduración celular perinatal (animales de 15 días de edad) y a largo plazo (animales de 90 y 220 días).

Tomando en consideración la importancia funcional de la serotonina como neurotransmisor del SNC, así como de los daños selectivos por la desnutrición en las diferentes estructuras cerebrales, el presente trabajo se realizó en animales desnutridos prenatalmente y rehabilitados nutricionalmente al momento del nacimiento con madres nodrizas, para observar los daños y alteraciones que causa la desnutrición proteínica en el tallo cerebral, especialmente en las diferentes células del núcleo rafe dorsal, principal productor de la serotonina (5-HT) en el SNC y en animales de 15, 90 y 220 días de edad.

OBJETIVOS:

-Hacer una comparación morfológica de las poblaciones celulares del núcleo rafe dorsal (NRD) de los animales prenatalmente desnutridos con una dieta de 6% de caseína y rehabilitados posnatalmente con 25%, en relación con aquellos animales normales nutridos pre y posnatalmente con la dieta de 25% de caseína.

-Establecer el grado de alteraciones que sufren los organismos desnutridos en las poblaciones celulares que configuran al NRD, principal productor de 5H-T, en el tallo cerebral de la rata.

-Establecer el patrón de desarrollo normal en los animales control entre las tres edades, de los parámetros celulares, medidos en los tres tipos celulares del NRD

-Valorar en este estudio las fluctuaciones en los animales rehabilitados nutricionalmente, en relación al patrón de desarrollo de los animales control.

-Valorar que efectos tiene la rehabilitación nutricional en la población celular del NRD, en particular en el parámetro de densidad de espinas que representan el sitio de sinaptogenesis, en organismos desnutridos.

-Establecer que nuevos parámetros de estudio se podrían postular para medir las posibles alteraciones que causa la desnutrición prenatal en el NRD.

HIPOTESIS:

Si existe deficiencia protéinica en la dieta materna, habrá alteraciones importantes en el desarrollo del SNC de los crios a pesar de una rehabilitación nutricional posnatal. En particular alteraciones en las poblaciones celulares que forman neurotransmisores como la serotonina.

MATERIAL Y METODOS

Animales:

Un total de 24 hembras primíparas y 8 machos de la variedad Sprague-Dawley, se utilizaron para efectuar las cruces. Las hembras se seleccionaron entre 250-300 gramos de peso corporal y se colocaron 3 de ellas en cada caja de acrílico (48 X 27 X 16cm). Los machos se separaron individualmente. Todos los sujetos se mantuvieron en condiciones óptimas de bioterio, cuya temperatura fue entre 22 a 24 grados centígrados y el nivel de humedad entre 40 a 50%, en condiciones de 12 hr. de luz y 12 hr. de oscuridad (luz de 8:00 a 20:00 horas). La comida y el agua se administró ad libitum.

Tratamiento Nutricional:

Ocho hembras se desnutrieron con una dieta con 6% de caseína, y 16 hembras se nutrieron con una dieta de 25% de caseína (controles), durante 5 semanas antes del apareamiento (Tabla 1). Las 32 hembras se pesaron cada tercer día.

TABLA I

Composición Nutricional de las Dietas

Componente	Dieta *	Dieta *	Dieta
	25% Caseína	6% Caseína	
PROTEINA *	21.8	5.3	26.3
GRASA	15.4	15.0	7.1
CARBOHIDRATO	50.9	68.9	42.9
SALES	4.7	4.0 ⁺	3.5
VITAMINAS	1.0	1.0	0.3
AGUA	2.2	1.2	9.6
COMPONENTE NO NUTRITIVO	4.2	4.2	10.3
Kcal/g	4.3	4.3	3.0

* Complementación con L-metionina (0.4%) debido a la ausencia de éste aminoácido esencial en la caseína.

+ Complementación con fosfato de calcio monobásico (0.6%) y carbonato de zinc (0.001%) a la mezcla de sales en ésta dieta para mantener éstos minerales a niveles encontrados en otras dietas.

Cruzas:

Después del periodo nutricional experimental, de 5 semanas se colocó un macho con 3 hembras. Se tomaron de cada hembra, frotis vaginales para determinar el momento de la gestación (Tonkiss y cols. '88) se mantuvo un registro individual por cada hembra, dos de ellas fueron marcadas en la parte izquierda o derecha de su cuerpo con violeta de cresilo. Todas las hembras preñadas fueron puestas en cajas de acrílico (48 X 27 X 16 cm), manteniéndose en las mismas condiciones de bioterio. Las ratas preñadas, fueron mantenidas con la misma dieta durante todo el periodo de gestación.

Camadas:

Las camadas nacidas el mismo día, de las ratas de dietas de 6% y 25%, fueron pesadas, sexadas y estandarizadas en un número de 8 crías, poniéndolas en una crianza cruzada, con madres nodrizas nutridas con 25%, para rehabilitarlas nutricionalmente, durante el periodo de lactancia,. Al mismo tiempo se distribuyeron al azar las crías nacidas en el mismo día, lo que permitió mantener un orden genéticamente heterogéneo. El porcentaje de mortalidad de las crías fue de un 4% tanto en los controles como en los desnutridos. Las madres alimentadas con la dieta de 6% de caseína así como las

crias de las madres control fueron sacrificadas. Con este procedimiento, se obtuvieron un total de 8 camadas rehabilitadas durante la lactancia (6/25%) y 8 camadas control, alimentadas con una dieta de 25/25% de caseína. Se tomaron los pesos corporales de cada madre y sus crias, desde el nacimiento y cada tercer día, hasta los 15 días de edad. Después del destete las ratas fueron separadas por sexo en cajas de acrílico en número de 4. Para el estudio histológico, se seleccionaron al azar 2 crios de cada camada (6/25% o 25/25%), y el mismo procedimiento fue seguido para 90 y 220 días de edad Cintra y cols., ('91).

Técnica Histológica:

Ocho animales machos fueron usados en cada condición experimental 6/25% y 25/25% de caseína en la dieta, quedando un total de 16 animales por edad y un total de 48 machos en las 3 edades. Las ratas machos fueron anestesiadas con pentobarbital, y perfundidos por vía intracardiaca. Los cerebros fueron removidos de la cavidad craneana al día siguiente y pesados. Por cada cerebro se obtuvo un bloque de 4mm de espesor, del tallo cerebral el cual contenía al NRD, según Paxinos y Watson ('80) cada bloque fue preparado utilizando la técnica de Golgi rápido, siguiendo las modificaciones de Diaz-Cintra y cols., ('81). Los bloques se incluyeron en nitrocelulosa de baja viscosidad, cortados en

serie en un espesor de 90 y 120 micras. Así, la sección frontal de cada cerebro que contenía el NRD, fue montada siguiendo una seriación. A cada corte se le asignó un número al azar asegurándose que todas las observaciones fueran hechas a ciegas con respecto a las condiciones de dieta y edad. De cada corte y en cada sección de tejido de 120 micras de espesor, se identificaron 30 células fusiformes, 30 multipolares y 30 ovoides de todas las regiones en las que se dividió el NRD, y se cuantificaron un total de 540 células por las dos condiciones; experimentales y controles en las tres edades estudiadas.

Mediciones Morfológicas:

Las observaciones se realizaron en un microscopio fotónico Marca Zeiss con óptica planapocromática, utilizando un objetivo planapocromático de 40X y un ocular de 10X. Al mismo tiempo se tomaron las mediciones con una retícula previamente calibrada. Los parámetros medidos en cada célula fueron: 1) el tamaño del soma en sus ejes mayor y menor (en micras), 2) número de dendritas primarias y secundarias, 3) extensión lineal de dos dendritas primarias y sus secundarias y 4) número de espinas por cada segmento de 50 micras en los segmentos mediales de dos dendritas primarias y sus secundarias (Fig. 6).

Análisis Estadístico:

Por estudios previos (Cintra.L y cols., '91) de la población de ratas analizada se sabe que no existen diferencias significativas entre los sujetos por lo que se procedió al análisis directo de cada uno de los parámetros medidos, en cada tipo celular se procesó estadísticamente con ANOVA de dos vías (considerando la dieta y la edad como los dos factores a analizar), utilizando el programa SPSS (Social Package Social Science). Los resultados significativos por la dieta o por la edad fueron valorados en cada edad y condición experimental con un ANOVA de una vía y posteriormente con la prueba paramétrica "t" de Student en los parámetros de eje mayor y menor del soma y extensión lineal de las dendritas y no paramétrica U de Mann Whitney para los parámetros de número de somas y espinas considerando que la variación entre los sujetos no fue significativa cada célula se consideró como una medida independiente.

NRD

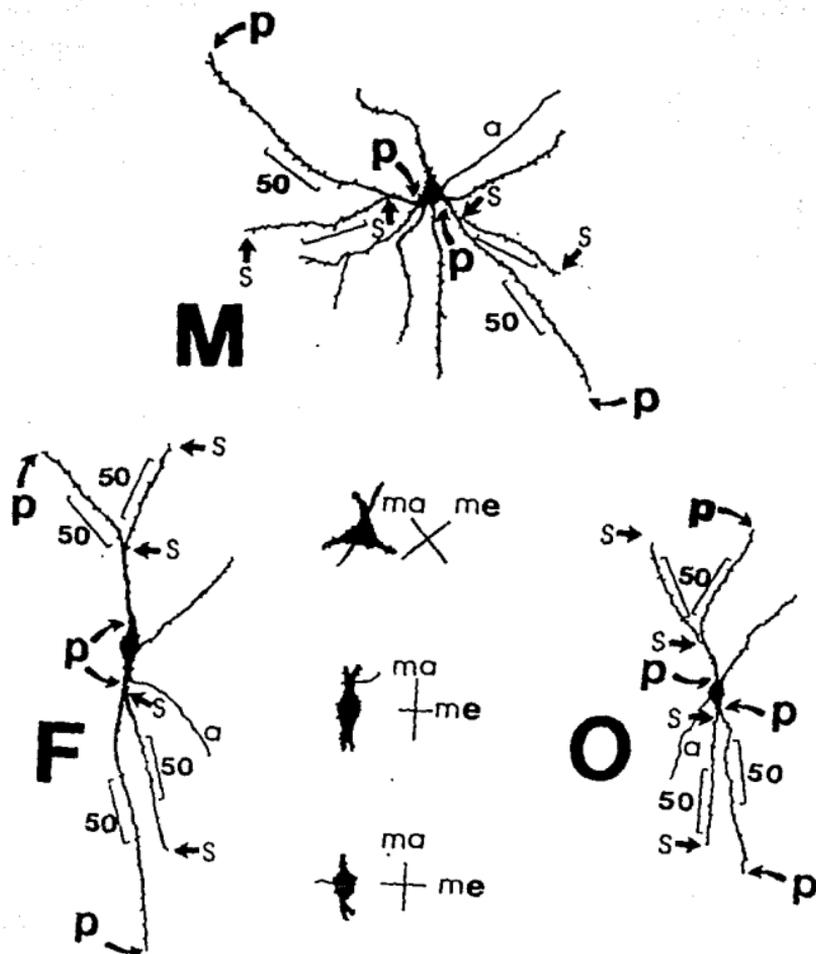


Fig. 1. Dibujos elaborados con la cámara lúcida de cada tipo celular, multipolares (M), fusiformes (F), y ovoides (O), localizados en el NRD, y las mediciones cuantificadas para cada uno. El tamaño del cuerpo celular se tomó en los ejes mayor (ma) y menor (me) del soma. La extensión lineal de la dendrita primaria, se midió en cada polo de la célula (p) y la extensión lineal de la dendrita secundaria (s) a partir de su origen de la dendrita primaria. Entre paréntesis, se indica el segmento de 50 micras en el cual se midió el número de espinas dendríticas.

RESULTADOS

I. Observaciones cualitativas de las células del núcleo rafe dorsal (NRD).

El NRD, se localizó en la 1ª porción del mesencéfalo, al nivel del cuarto ventrículo (Acueducto de Silvio), dorsal a los fascículos longitudinal medial (flm) y rodeado de la formación reticular mesencefálica (frm). La organización citoarquitectural, la configuran tres tipos celulares previamente descritos, localizados en todo el NRD (Figs. 2 y 4). Algunas características citológicas lo distinguen de las estructuras circunvecinas, como son; la cercanía de las células con los vasos sanguíneos (Fig. 5), así como aposiciones somales (Fig. 6).

II. Observaciones cuantitativas de las células del NRD.

Los parámetros medidos en las células del núcleo rafe dorsal se describirán en cada uno de los tres tipos estudiados, así como las diferencias estadísticas encontradas por la dieta y por la edad (Tablas II, III y IV y gráficas I-II).

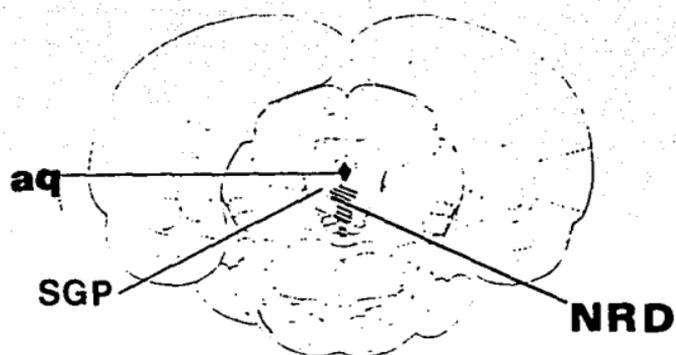


Fig.2. Fotomontaje a un nivel rostral del Núcleo Rafe Dorsal (NRD) y áreas circunvecinas, aq, acuoducto, SGP, sustancia gris periventricular, FLM, fascículo longitudinal medial. En A, se indica la zona del NRD teñida con Nissl y en B, la misma zona teñida con Golgi. 16X.

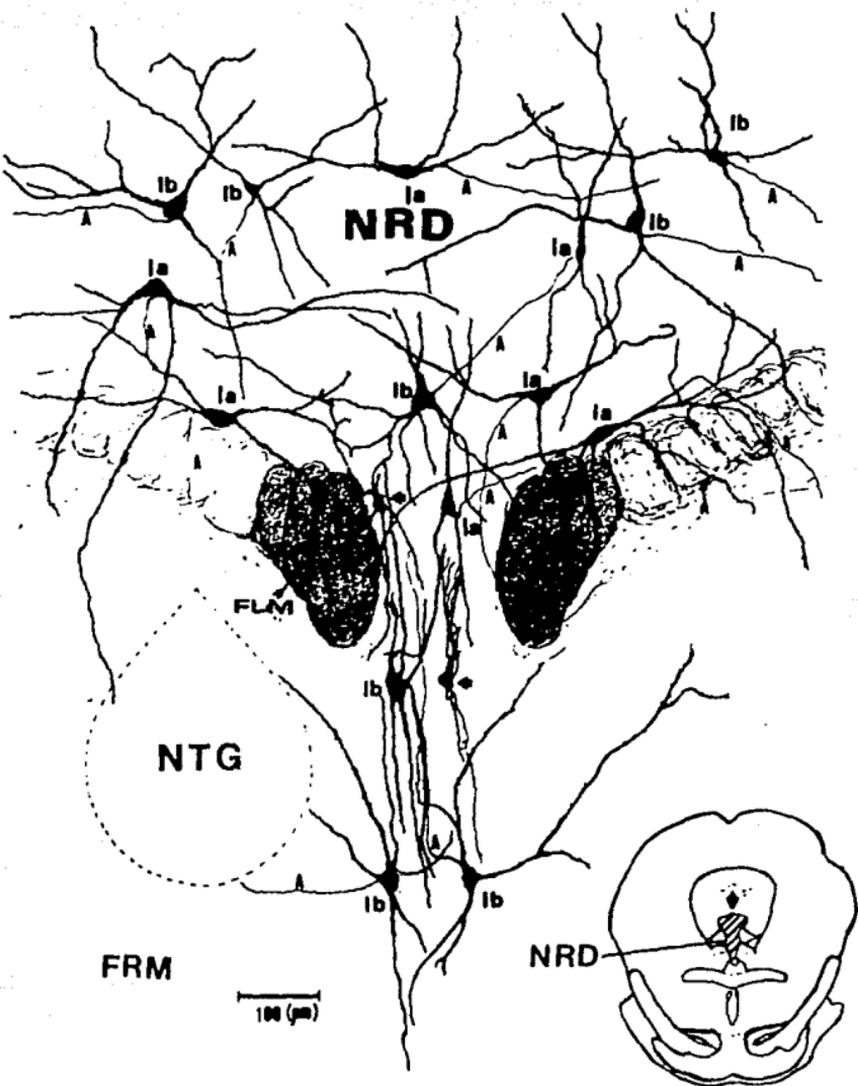


Fig.3. Dibujo del NRD, efectuado con la cámara lúcida en donde se indican con Ia, las células fusiformes, Ib, las multipolares, las células ovoides, marcadas con una flecha. A, axones, FLM, fascículo longitudinal medial, NTG, núcleo tegumental de Gudenn, FRM, formación reticular mesencefálica.

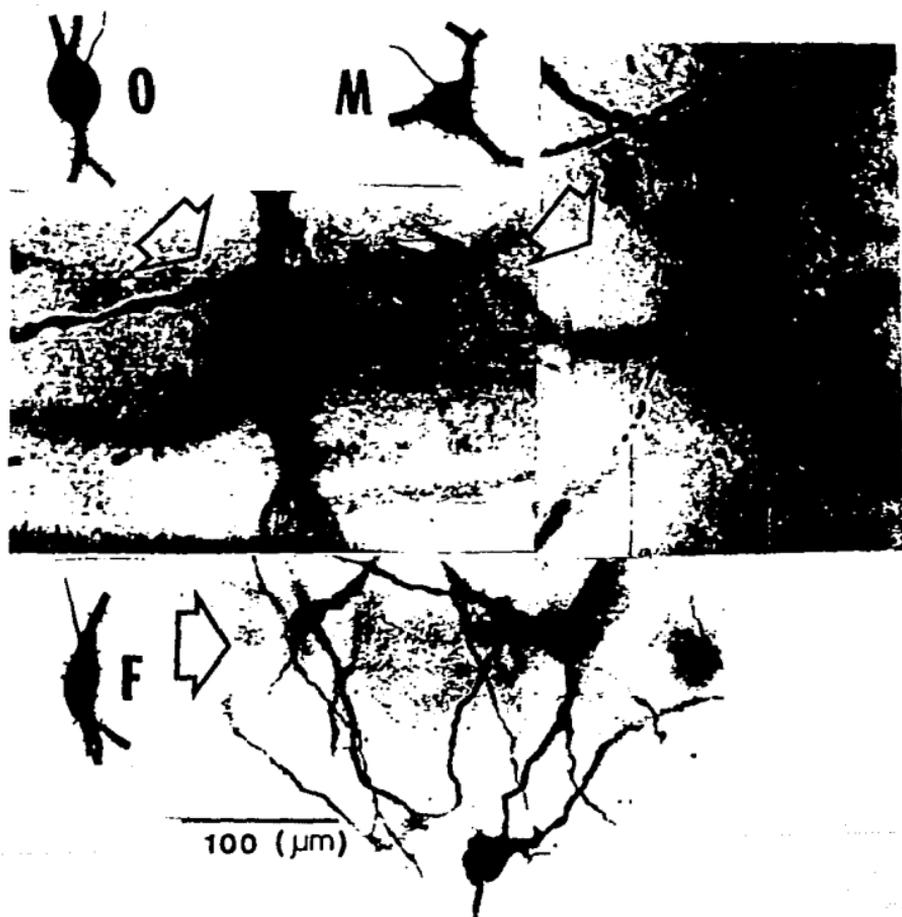


Fig.4. Fotomicrografías y dibujos hechos con la cámara lúcida de las células del NRD, las flechas grandes señalan los tipos celulares correspondientes; O, ovoides, M, multipolares a 100X y F, fusiformes a 40 X. La flecha pequeña indica las espinas peristomáticas en las células ovoides.

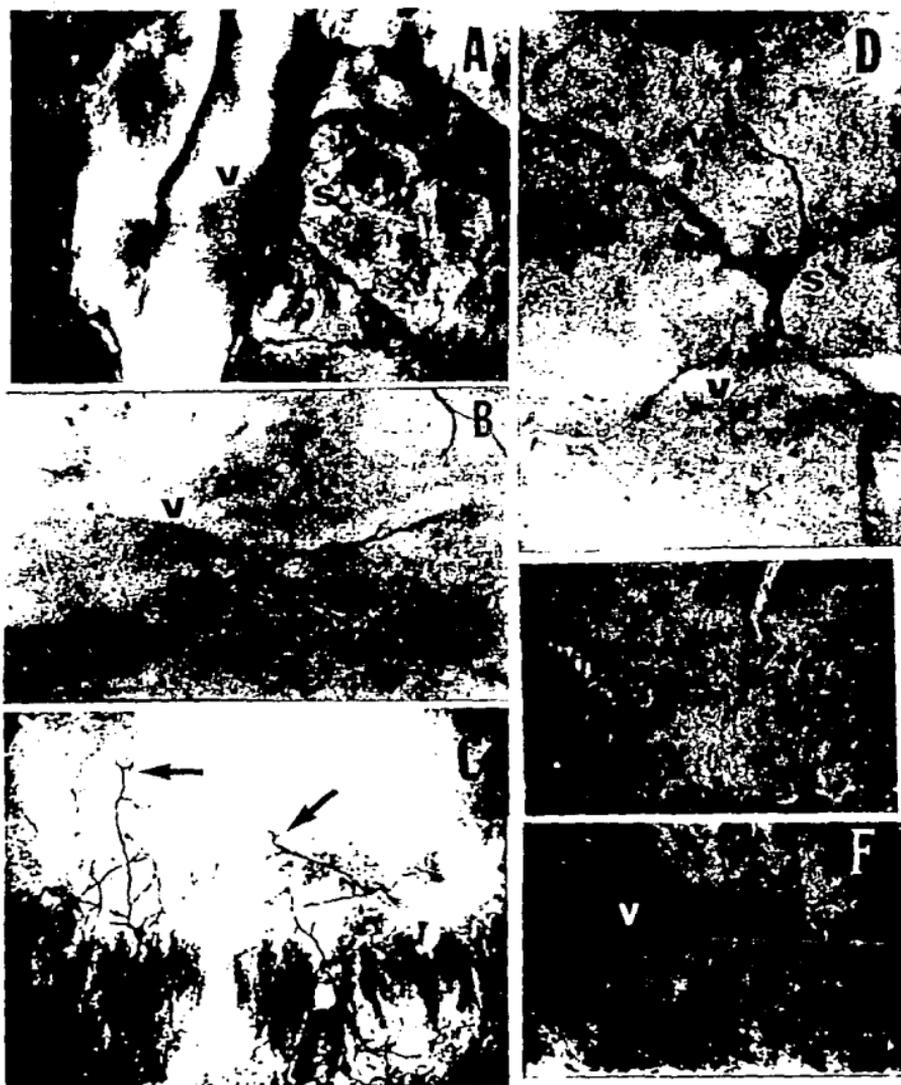


Fig.5. A, fotomicrografia (40X) de aposiciones somales (s) con vasos sanguineos (v) , B y C, dendritas siguiendo la trayectoria de un vaso sanguineo (v) en 25X y 16X aumentos, respectivamente, D, dendritas de células multipolares en relación a vasos sanguineos (v), E y F, muestran las nodificaciones de las dendritas terminales de las células multipolares (m) en los vasos (v) en 10X y 25X aumentos, respectivamente.

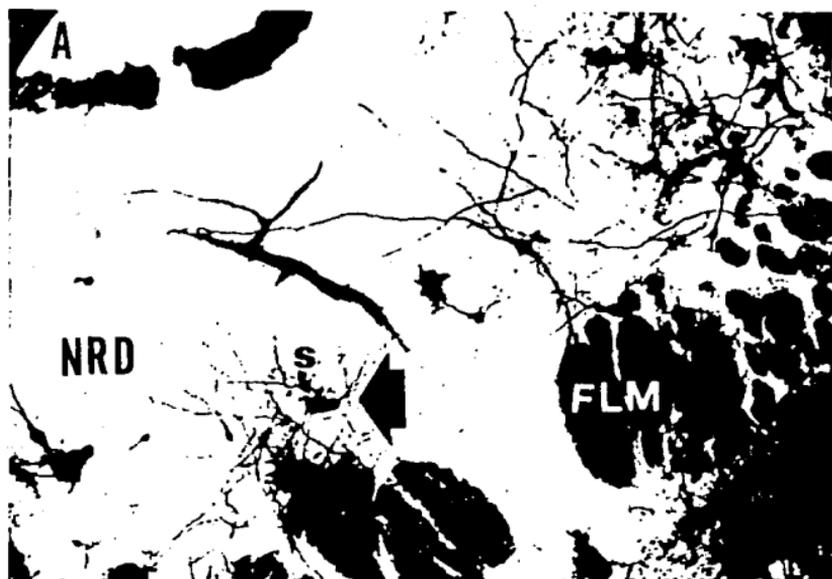


Fig.6. A, fotomicrografia (25X) del núcleo rafe dorsal (NRD) de aposiciones somales (flechas; grande y chica y s.) B, el mismo campo a mayor aumento (40X), FLM fasciculo longitudinal medial, para ambos incisivos.

Células Fusiformes:

Localizadas en los tres niveles del NRD (Figs. 7, 8 y 9) presentan una mayor diferencia entre los ejes mayor y menor del soma. Los resultados de las mediciones morfométricas se muestran en la Tabla II y en las gráficas 1 a la 3.

1. Efectos significativos por la dieta en las células fusiformes.

La Tabla II resume los valores de F del análisis de varianza de 2 vías, en donde se muestran cambios significativos en cada uno de los parámetros medidos en 30 células fusiformes, en cada edad (2,174 grados de libertad_{qd}) y condición experimental (1,174_{qd}). Los efectos por la dieta se encontraron en el número de dendritas primarias, en la extensión lineal de las dendritas secundarias y en el número de espinas dendríticas en las dos ramas primaria y secundarias. Al mismo tiempo, las comparaciones por cada edad entre las dos dietas se efectuaron con una prueba de "t" student para el tamaño del soma y la extensión lineal y de U Mann Whitney, para el número de las dendritas y espinas.

a) En la gráfica 1, se muestran los efectos significativos por la dieta en el número de las ramas dendríticas, se encontró una reducción del 34% en las ramas primarias y un

aumento del 18% en las secundarias en los animales de 90 días de edad. Los animales de 220 días mostraron reducciones del 34% en las dendritas primarias y del 19% en las secundarias.

b) La extensión lineal de las dendritas solo mostró una reducción significativa del 14% en las ramas secundarias a la edad de 220 días (gráfica 2).

c) En la gráfica 3 se muestra la densidad de las espinas dendríticas, que en los animales de 90 días, mostró aumentos del 14% en las dendritas primarias y del 19% en las secundarias. En los animales de 220 días se encontraron aumentos en las espinas de las dendritas primarias del 46% y del 80% en las dendritas secundarias.

2. Efectos estadísticamente significativos por la edad en las células fusiformes del NRD.

La Tabla II, muestra los valores de F y los cambios significativos por la edad (2,174qd) en los parámetros del número de dendritas primarias y secundarias, la extensión lineal de las dendritas secundarias y el número de espinas en ambas dendritas, primarias y secundarias. Las interacciones mostraron diferencias en el número de dendritas y en el número de espinas en las ramas primarias y secundarias. Al efectuar las comparaciones entre las edades de 15 y 90 días

encontramos diferencias significativas en el número de las dendritas primarias y en el número de espinas en las dendritas primarias y secundarias. Entre las edades de 15 y 220 días las diferencias se encontraron en el número de las dendritas primaria, y en el número de espinas en las dendritas primarias y secundarias. Las comparaciones entre los 90 y 220 días mostraron diferencias en el número de las dendritas primarias, extensión lineal de las ramas secundarias y número de las espinas en las dendritas primarias y secundarias.

Células Multipolares:

Identificadas en todo el NRD, en los tres niveles (Figs. 7, 8 y 9) como células con más de tres dendritas, con somas triangulares de + 25 micras del eje mayor y de + 18 micras en el eje menor. Son células localizadas cerca de los vasos sanguíneos (Fig. 4 y 5).

1. Efectos significativos por la dieta en las células multipolares.

La Tabla III muestra los valores de F, del ANOVA de dos vías, en donde se muestran los cambios significativos en cada uno de los parámetros medidos en 30 células multipolares del NRD, en cada edad y condición experimental. Los efectos

significativos por la dieta (1,174gd) se observaron en todos los parámetros medidos. Las comparaciones en cada una de las edades por efecto de la dieta se procesaron con las pruebas de "t" Student para los parámetros del soma y la extensión lineal y U Mann Whitney para el número de dendritas y espinas.

a) El tamaño del soma, en los animales rehabilitados mostrarán en la edad de 90 días, un incremento de 10% en el eje mayor, y una reducción del 7% en el eje menor. En la edad de 220 días se encontró un decremento del 11% en el tamaño del eje menor (gráfica 4).

b) El número de ramas primarias en los animales rehabilitados de 15 días de edad se observó incrementado en 20% y el número de dendritas secundarias en un 27%. La edad de 90 días mostró un incremento significativo del 40% en el número de ramas secundarias. La edad de 220 días mostró incrementos del 9% y 39% en el número de ramas primarias y secundarias, respectivamente (gráfica 5).

c) La extensión lineal en los animales rehabilitados de 15 días de edad se redujo en un 16% en la dendrita secundaria, por efecto de la dieta. En tanto que a la edad de 90 días este parámetro mostró un decremento del 30% en la dendrita primaria y a la edad de 220 días mostró decrementos del 12% y

10% en las dendritas primarias y secundarias, respectivamente (gráfica 6).

d) El número de espinas dendríticas de las células multipolares de los animales rehabilitados nutricionalmente, se encontró reducido en un 15% en las dendritas primarias a la edad de 15 días por efecto de la dieta. Sin embargo, la edad de 90 días mostraron incrementos del 9% en las ramas primarias y del 30% en las ramas secundarias del 48% y 63% a los 220 días en las dendritas primarias y secundarias, respectivamente, (gráfica 7).

2. Efectos estadísticamente significativos por la edad en las células multipolares del NRD.

La Tabla III, muestra los valores de F y los cambios significativos por la edad (2,174gd) con una excepción las células multipolares, mostraron efectos por la edad, la excepción fué el número de dendritas primarias. Las diferencias entre la dieta y la edad, analizada por la interacción (2,174 gd), mostraron diferencias en el tamaño del eje menor del soma, en la extensión lineal de la dendrita primaria y el número de espinas primarias y secundarias. Al efectuar las comparaciones entre las edades se observaron diferencias entre las edades de 15 y 90, días en el eje mayor, el número de dendritas y la extensión lineal de las

dendritas primarias, así como el número de dendritas y espinas secundarias. Entre las edades de 15 y 220 días, a excepción del eje mayor, todos los parámetros mostraron cambios por la edad. Entre las edades de 90 y 220 días, se encontraron diferencias en el eje menor, el número de dendritas secundarias, la extensión lineal de las primarias y el número de espinas en las dendritas secundarias.

Células Ovoides:

Localizadas al igual que las fusiformes y multipolares a todos los niveles del NRD, (Figs. 7,8 y 9), como las células más pequeñas con pocas dendritas y espinas. Los resultados de las mediciones morfológicas se muestran en la Tabla IV, y en las gráficas de la 14 a la 21.

1. Efectos significativos por la dieta en las células ovoides.

En la Tabla IV se expresan los valores de F, como resultado del ANOVA, en donde se muestran los cambios significativos en cada uno de los parámetros medidos. Los efectos por la dieta (1,174gd) se localizaron en 4 de las 8 mediciones efectuadas. En el número de las dendritas primarias, la extensión lineal de las dendritas primarias y el número de las espinas en ambas dendritas.

a) Tamaño del soma, los animales rehabilitados de 90 días mostraron incremento del 12% en el eje menor y a los 220 días este incremento fue del 9% (gráfica 8).

b) El número de las dendritas secundarias en los animales experimentales de 15 días se observó reducido en un 13%, En los animales de 90 días se presentó un incremento del 32% en las mismas dendritas. Los animales experimentales, presentaron a los 220 días una reducción del 36% en el número de ramas primarias en un 36% y una disminución del 20% en las dendritas secundarias (gráfica 9).

c) La extensión lineal de las ramas primarias, en los experimentales de 15 días se observó reducida en un 10% y a los 90 días se redujo en 11%, en tanto que a los 220 días el decremento fue del 14% en las dendritas secundarias (gráfica 10).

d) El número de las espinas sobre la dendrita secundaria a los 15 días se encontró decrementado en un 28% por efecto de la dieta. Los animales de 90 días mostraron un incremento del 14% en el número de espinas en la dendrita secundaria. Los animales experimentales de 220 días mostraron incrementos del 45% en la dendrita primaria y del 72% en la dendrita secundaria (gráfica 11).

2. Efectos estadísticamente significativos, ocurridos por la edad en las células ovoides.

La Tabla IV, muestra los valores de F y los cambios significativos por la edad (2,174gd) en los parámetros del número de dendritas secundarias, la extensión lineal de las dendritas primarias y secundarias y el número de espinas en ambas dendritas, primarias y secundarias. Las interacciones entre la dieta y edad mostraron diferencias en todos los parámetros a excepción de la extensión lineal en ambas dendritas. Al efectuar las comparaciones entre las edades, encontramos diferencias entre las edades de 15 y 90 días en la extensión lineal de las dendritas primarias. Entre las edades de 15 y 220 días, los cambios se encontraron en el número de dendritas primarias y secundarias, la extensión lineal de las dendritas secundarias y el número de espinas en ambas dendritas. Las comparaciones entre la edad de 90 y 220 días, mostraron cambios en el eje menor, el número de dendritas primarias y en el número de espinas en las dendritas primarias y secundarias.

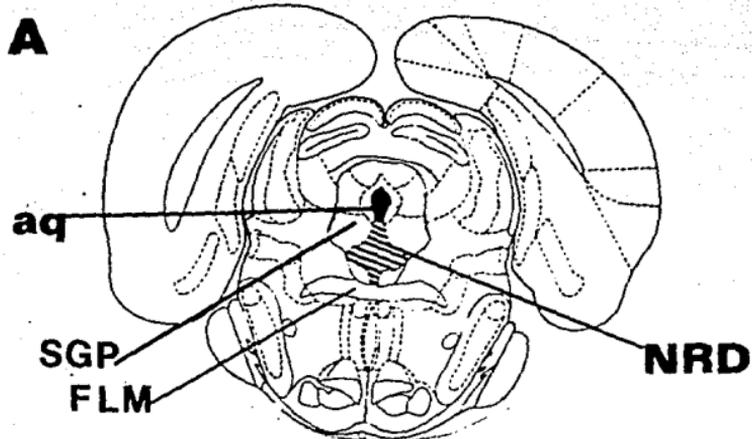


Fig.7. En A, se muestra un esquema frontal del mesencéfalo de la ratona en donde se indica el límite rostral del NRD, y las estructuras que lo rodean; aq, acueducto de Silvio, sustancia gris periventricular SGP, fascículos longitudinales mediales, FLM. En B, se indica el mismo nivel del NRD teñido con Golgi.

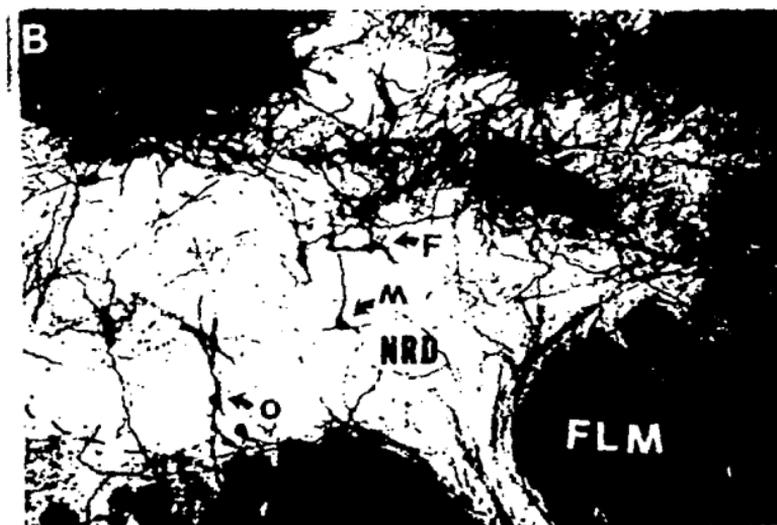
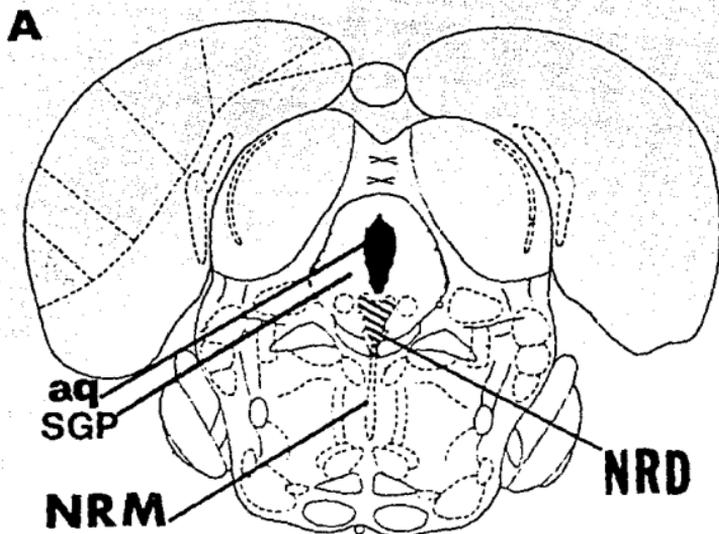


Fig. 8. En A, se muestra un esquema a nivel medial del NRD en el mesencéfalo de la rata en un corte frontal, observe la extensión dorso-medial del NRD y su cercanía con el núcleo rafe medial (NRM), aq, acueducto y SGP, sustancia gris periventricular. En B se muestra un corte al mismo nivel teñido con Golgi donde se muestran las células fusiformes (F), multipolares (M) y ovoides (O) en el NRD. (FLM) fascículo longitudinal medial.

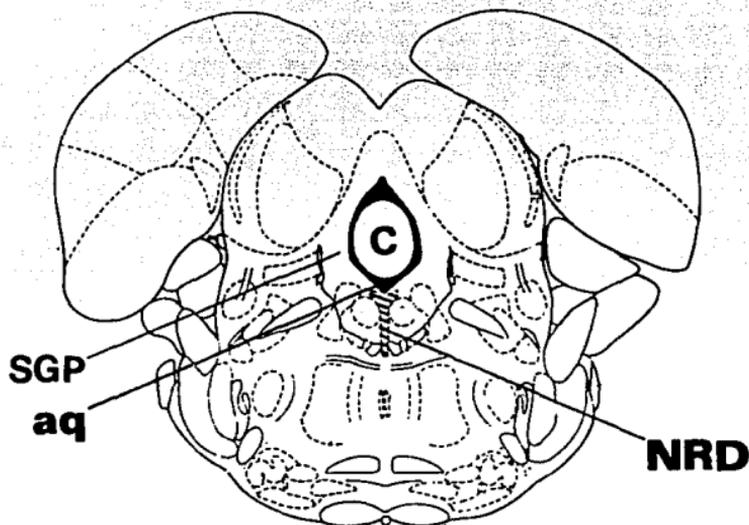
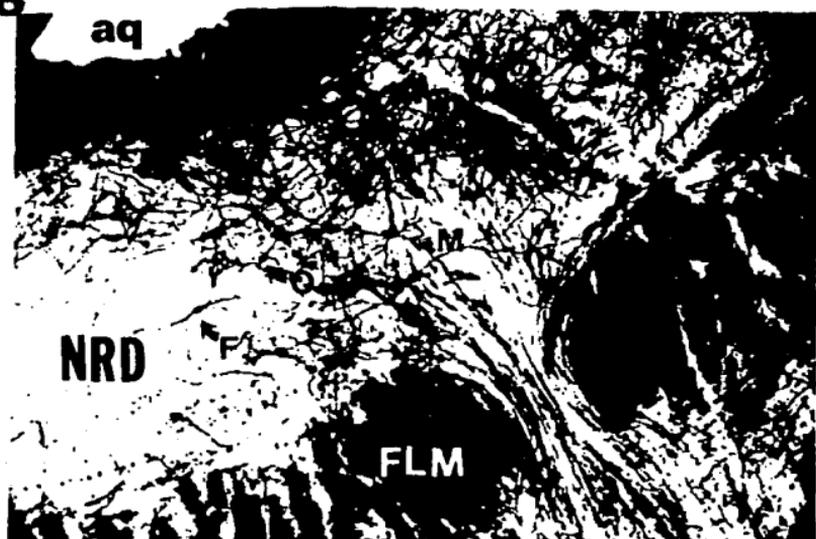
A**B**

Fig.9. En A, se indica a un nivel caudal del NRD, un esquema frontal del tallo cerebral de la rata y las estructuras circunvecinas, aq, acueducto, C, cerebelo, SPG, sustancia gris periventricular y FLM, fascículo longitudinal medial. En B, el mismo nivel del NRD, Tejido con Golgi y las células multipolares (M), fusiformes (F) y ovoides (O), localizadas para las mediciones morfométricas.

T A B L A 11

EFFECTOS DE LA REHABILITACION NUTRICIONAL SOBRE LAS CELULAS FUSIFORMES DEL NUCLEO RAFA DORSAL DE ANIMALES DESNUTRIDOS DURANTE LA GESTACION^a

VALORES DE F

DIETA	EDAD	Interacción	Comparaciones entre las edades		
			15 vs		90 vs
			90	220	220
(1,174) ^c	(2,174)	(2,174)	(1,118)	(1,118)	(1,118)

FUSIFORMES

SOMA

Eje Mayor (μm)	3.23 NS	0.15 NS	1.30 NS	--	--	--
Eje Menor (μm)	3.30 NS	3.97 NS	0.58 NS	--	--	--
DENDRITAS:						
a) Número de						
Primarias	97.72*** ^d	10.16*** ^b	12.80***	39.75***	31.54***	116.12***
Secundarias	0.86 NS	22.64***	7.61***	0.78 NS	6.65 NS	0.05 NS
b) Extensión Lineal						
Primarias	2.63 NS	3.29 NS	0.28 NS	--	--	--
Secundarias	6.46*	8.46*	1.27 NS	1.60 NS	4.49 NS	5.38*
c) No. de Espinas (50μm)						
Primarias	79.50***	4.15*	20.25***	14.42***	63.15***	63.84***
Secundarias	133.26***	10.62***	57.22***	11.06**	68.86***	104.29***

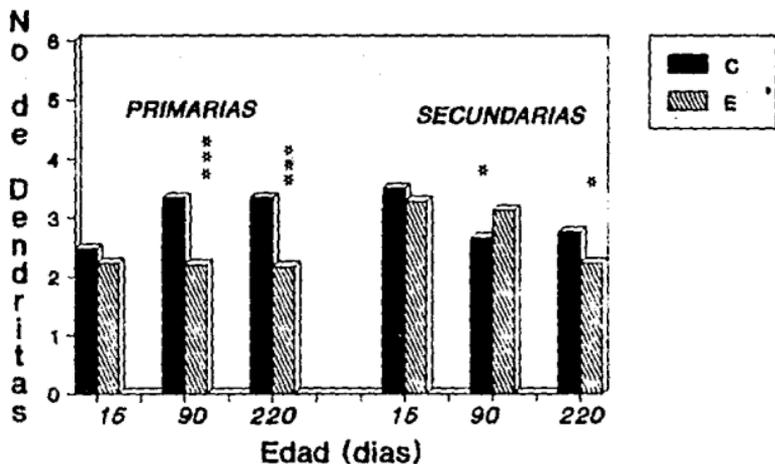
a = Análisis de varianza (ANOVA)

b = Cuando se encontraron diferencias significativas con la edad, se hicieron las comparaciones entre 2 edades.

c = Grados de libertad

d = Valores de la Probabilidad * p < 0.05; ** p < 0.01 y *** p < 0.001

NUMERO DE DENDRITAS Celulas Fusiformes

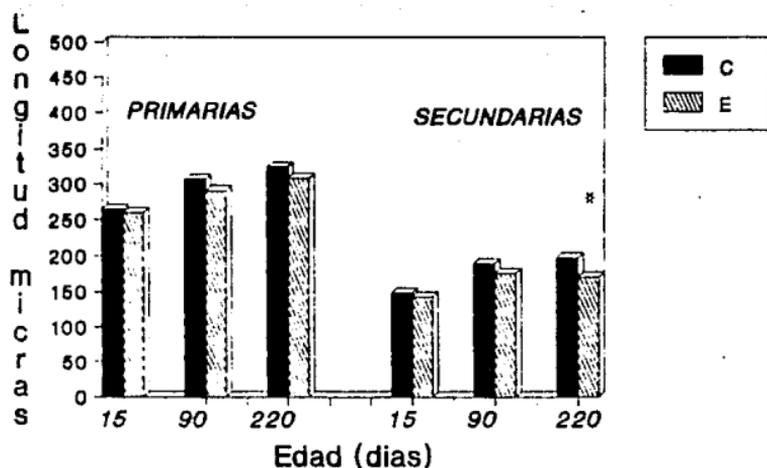


Rafe Dorsal

GRÁFICA 1. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PRENATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL POSNATAL EN EL NÚMERO DE DENDRITAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS DE LAS CÉLULAS FUSIFORMES DEL NRD, EN LAS EDADES DE 15, 90 Y 220 DÍAS. NÓTESE EL DECREMENTO SIGNIFICATIVO DE LAS DENDRITAS PRIMARIAS EN LOS ANIMALES REHABILITADOS NUTRICIONALMENTE EN LAS EDADES DE 90 Y 220 DÍAS DE EDAD Y EL INCREMENTO EN LAS RAMAS SECUNDARIAS A LOS 90 DÍAS. * $P < 0.05$ y *** $P < 0.001$, ENTRE LOS ANIMALES CONTROL (C) Y LOS EXPERIMENTALES (E).

EXTENSION LINEAL

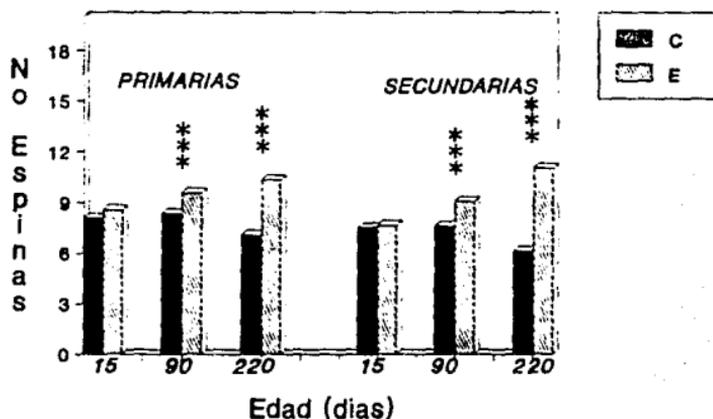
Celulas fusiformes



Rate Dorsal

GRÁFICA 2. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PRENATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL POSNATAL, SOBRE LA EXTENSIÓN LINEAL DE LAS DENDRITAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS DE LAS CÉLULAS FUSIFORMES, EN LAS TRES EDADES ESTUDIADAS, SOLO LAS DENDRITICAS SECUNDARIAS DE LOS ANIMALES DE 220 DÍAS MOSTRÓ UN DECREMENTO SIGNIFICATIVO DE * $P < 0.05$, CONTROLES(C) Y EXPERIMENTALES (E).

NUMERO DE ESPINAS Celulas Fusiformes



Rafe Dorsal

GRÁFICA 3. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PRENATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL POSNATAL, SOBRE EL NÚMERO DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS DE LAS RAMAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS DE LAS CÉLULAS FUSIFORMES, COMO SE PUEDE OBSERVAR, LAS EDADES DE 90 Y 220 DÍAS MOSTRARON INCREMENTOS SIGNIFICATIVOS DE $***p < 0.001$, EN AMBAS DENDRITAS, CONTROLES (C) Y EXPERIMENTALES (E).

T A B L A III

EFFECTOS DE LA REHABILITACION NUTRICIONAL SOBRE LAS CELULAS MULTIPOLARES DEL NUCLEO RAPE DORSAL DE ANIMALES DESNUTRIDOS DURANTE LA GESTACION. ^a

	Valores de F					
	DIETA (1,174) ^c	EDAD (2,174)	Interacción (2,174)	Comparaciones entre las edades		
				15 vs		90 vs
				90 (1,118)	220 (1,118)	220 (1,118)
MULTIPOLARES						
SOMA						
Eje Mayor (µm)	10.69*** d	12.78*** b	3.29 NS	19.50***	2.03 NS	4.39 NS
Eje Menor (µm)	8.38 **	12.15***	4.57*,b	1.18 NS	5.56*	9.74**
DENDRITAS:						
Número de						
Primarias	20.02***	1.55 NS	2.15 NS	16.25***	25.28***	4.89 NS
Secundarias	84.72***	6.25**	0.49 NS	61.70***	54.55***	49.77***
Extensión						
Lineal (µm)						
Primarias	43.95***	13.09***	9.65***	42.31***	9.66**	30.92***
Secundarias	10.13**	45.95***	3.69 NS	3.09 NS	19.77***	1.22 NS
Número de						
espinas (50 µm)						
Primarias	18.97***	5.26*	39.69***	1.06 NS	9.66**	38.47 NS
Secundarias	92.33***	33.46***	22.50***	14.53***	42.54***	83.83***

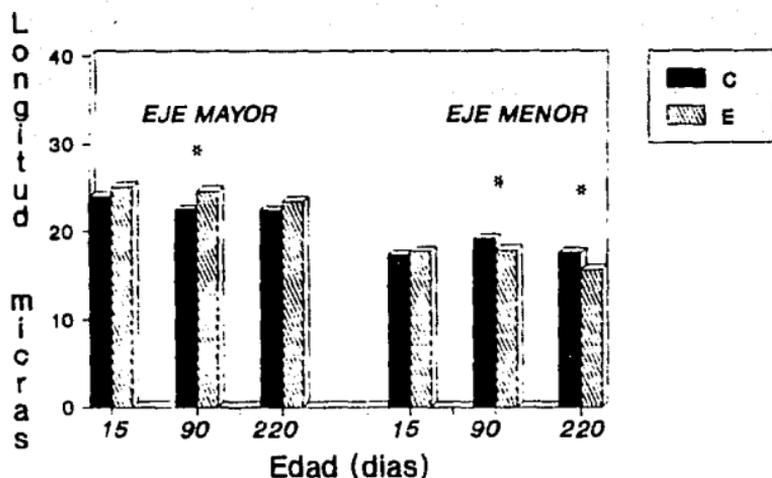
a = Análisis de varianza (ANOVA)

b = Cuando se encontraron diferencias significativas con la edad, se hicieron las comparaciones entre 2 edades.

c = Grados de libertad

d = Valores de la Probabilidad * p < 0.05; ** p < 0.01 y *** p < 0.001

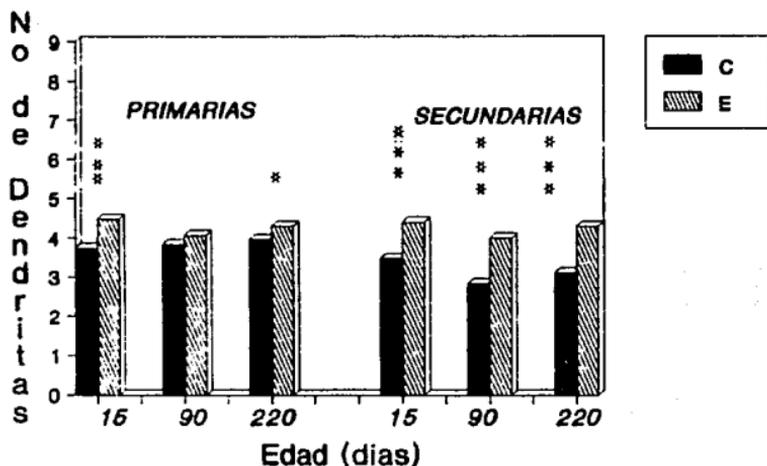
EJE MAYOR Y MENOR Células Multipolares



Rafe Dorsal

GRÁFICA 4. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PRENATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL POSNATAL, SOBRE EL TAMAÑO DEL SOMA DE LAS CÉLULAS MULTIPOLARES DEL NRD. OBSÉRVESE EL AUMENTO SIGNIFICATIVO ($*P < 0.05$) EN EL EJE MAYOR A LA EDAD DE 90 DÍAS, POR EFECTO DE LA REHABILITACIÓN, EN TANTO QUE EL EJE MENOR SE REDUJO EN LOS 90 Y 220 DÍAS. $*P < 0.05$, CONTROLES (C) Y EXPERIMENTALES (E).

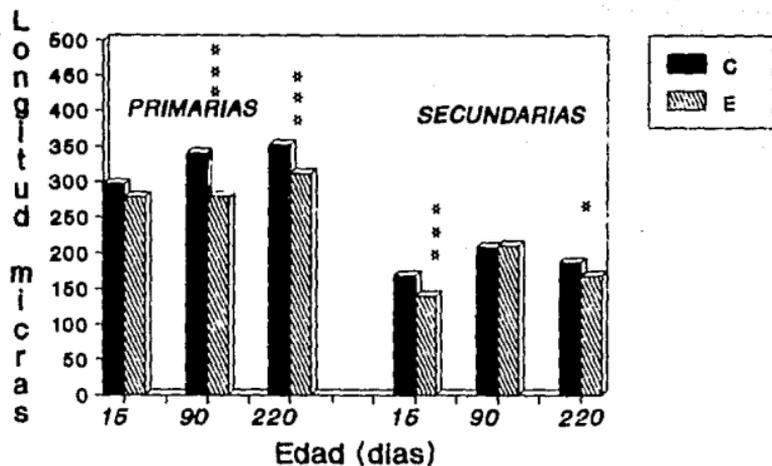
NUMERO DE DENDRITAS Celulas Multipolares



Rafe Dorsal

GRÁFICA 5. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PRENATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL POSNATAL, SOBRE EL NÚMERO DE LAS DENDRITAS DE LAS CÉLULAS MULTIPOLARES EN AMBAS DENDRITAS. NÓTESE EL INCREMENTO SIGNIFICATIVO EN LAS RAMAS PRIMARIAS A LOS 15 Y 220 DÍAS Y DE LAS SECUNDARIAS EN TODAS LAS EDADES ESTUDIADAS. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, CONTROLES (C) Y EXPERIMENTALES (E).

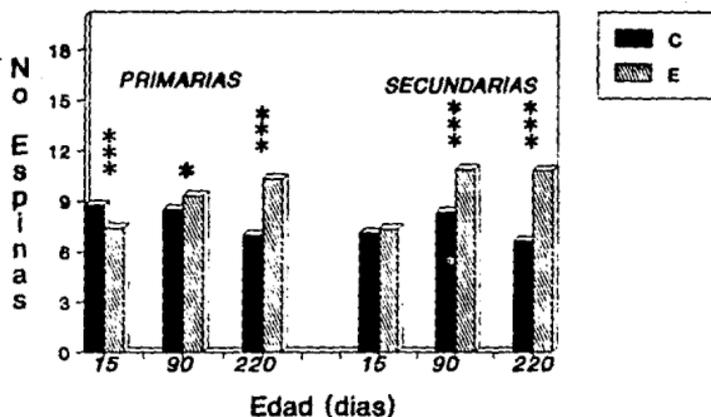
EXTENSION LINEAL Celulas Multipolares



Rafe Dorsal

GRÁFICA 6. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PRENATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL POSNATAL, SOBRE LA EXTENSIÓN LINEAL DE LAS DENDRITAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS, EN LAS CÉLULAS MULTIPOLARES. NÓTESE EL DECREMENTO SIGNIFICATIVO EN LAS RAMAS PRIMARIAS A LOS 90 Y 220 DÍAS Y DE LAS SECUNDARIAS LOS 15 Y 220 DÍAS DE EDAD. *P < 0.05.; ***P < 0.001. CONTROLES (C) Y EXPERIMENTALES.

NUMERO DE ESPINAS Celulas Multipolares

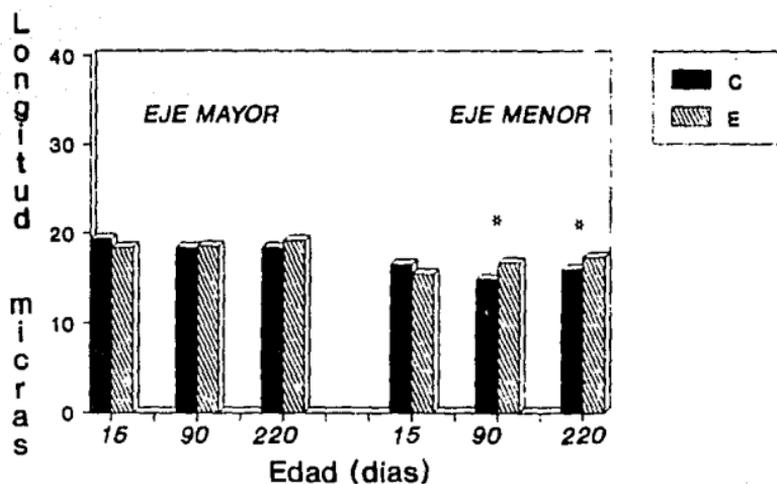


Rafael Dorant

GRÁFICA 7.. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PRENATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL POSNATAL, SOBRE EL NÚMERO DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS DE LAS RAMAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS, EN LAS CÉLULAS MULTIPOLARES. NÓTESE EL INCREMENTO SIGNIFICATIVO EN AMBAS RAMAS A LOS 90 Y 220 DÍAS. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ Y *** $P < 0.001$, CONTROLES (C) Y EXPERIMENTALES (E).

EJE MAYOR Y MENOR

Celulas ovoides



Rafe Dorsal

GRÁFICA 8. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PRENATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL POSNATAL, SOBRE EL TAMAÑO DEL SUMA DE LAS CÉLULAS OVOIDES DEL NRD. OBSÉRVESE EL AUMENTO SIGNIFICATIVO (* $P < 0,05$) EN EL EJE MENOR EN LAS EDADES DE 90 Y 220 DÍAS - POR EFECTO DE LA REHABILITACIÓN, CONTROLES Y EXPERIMENTALES (C) Y (E).

T A B L A IV.

EFECTOS DE LA REHABILITACION NUTRICIONAL SOBRE LAS CELULAS OVOIDES DEL NUCLEO RAFA DORSAL DE ANIMALES DESNUTRIDOS DURANTE LA GESTACION^a

	VALORES DE F					
	DIETA	EDAD	Interacción	Comparaciones entre las edades		
				15 vs 90	220	90 vs 220
(1,174) ^c	(2,174)	(2,174)	(1,118)	(1,118)	(1,118)	
OVIDES						
Eje Mayor (μm)	0.00 NS	0.81 NS	3.11 ^{a b}	--	--	--
Eje Menor (μm)	3.87 NS	2.30 NS	6.28 ^{a d}	0.69 NS	0.18 NS	8.74 ^{**}
DENDRITAS:						
Número de						
Primarias	11.57 ^{***}	3.40 NS	21.98 ^{***}	0.32 NS	23.38 ^{***}	12.02 ^{**}
Secundarias	0.87 NS	11.37 ^{***}	14.74 ^{***}	2.15 NS	11.71 ^{**}	0.77 NS
Extensión Lineal						
Primarias	8.81 ^{**}	10.01 ^{***}	0.75 NS	10.58 ^{***}	3.82 NS	3.86 NS
Secundarias	5.79 [*]	5.42 [*]	0.83 NS	1.34 NS	9.92 ^{**}	4.16 NS
Número de Espinas (50 μm)						
Primarias	13.80 ^{***}	15.96 ^{***}	38.69 ^{***}	4.19 NS	18.03 ^{***}	18.72 ^{***}
Secundarias	34.94 ^{***}	4.98 ^{**}	101.65 ^{***}	4.15 NS	9.96 ^{**}	16.18 ^{***}

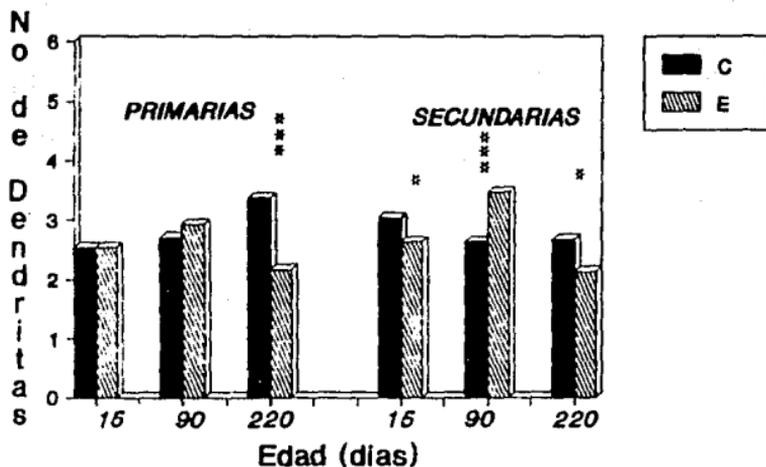
a = Análisis de varianza (ANOVA)

b = Cuando se encontraron diferencias significativas con la edad, se hicieron las comparaciones entre 2 edades.

c = Grados de libertad

d = Valores de la Probabilidad * p < 0.05; ** p < 0.01 y *** p < 0.001

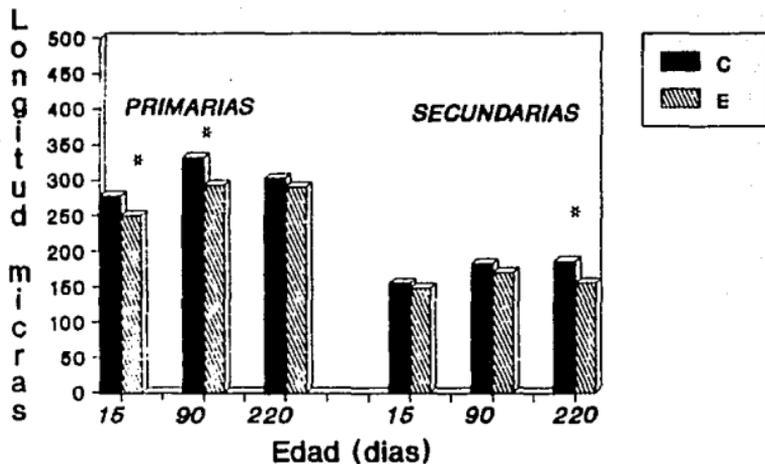
NUMERO DE DENDRITAS Celulas Ovoides



Rafa Dorzal

GRÁFICA 9. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PRENATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL POSNATAL, SOBRE EL NÚMERO DE LAS DENDRITAS DE LAS CÉLULAS OVOIDES EN AMBAS DENDRITAS. NÓTESE EL INCREMENTO A LA EDAD DE 90 DÍAS EN LA DENDRITA SECUNDARIA, Y LOS *P 0.05, **P < 0.01 Y ***P < 0.001, DECREMENTOS A LOS 220 DÍAS EN LA PRIMARIA Y SECUNDARIA, ASÍ COMO A LOS 15 DÍAS EN LAS RAMAS SECUNDARIAS, CONTROLES (C) Y EXPERIMENTALES (E).

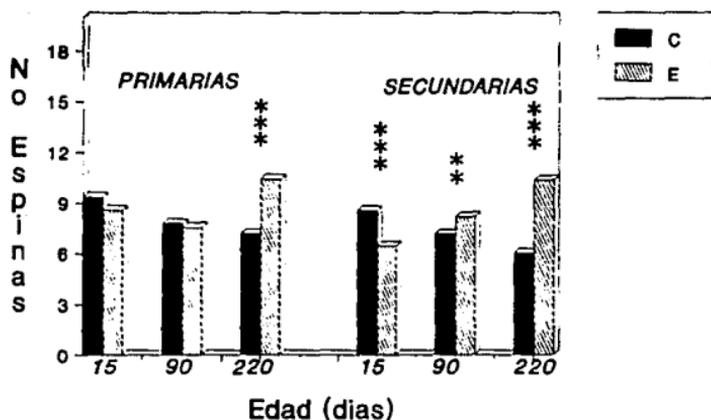
EXTENSION LINEAL Celulas Ovoides



Rafe Dorsal

GRÁFICA 10. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PRENATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL POSNATAL, SOBRE LA EXTENSIÓN LINEAL DE LAS DENDRITAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS, EN LAS CÉLULAS OVOIDES. NÓTESE EL DECREMENTO SIGNIFICATIVO EN LAS PRIMARIAS A LOS 15 Y 90 DÍAS Y DE LAS SECUNDARIAS A LOS 220 DÍAS DE EDAD. * $P < 0.05$. CONTROLES (C) Y EXPERIMENTALES (E).

NUMERO DE ESPINAS Celulas Ovoides



Rafe Dorsal

GRÁFICA 11. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN PRENATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL POSNATAL, SOBRE EL NÚMERO DE LAS ESPINAS DENDRÍTICAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS, EN LAS CÉLULAS OVOIDES. NÓTESE EL DECREMENTO SIGNIFICATIVO A LOS 15 DÍAS EN LAS DENDRITAS PRIMARIAS Y SECUNDARIAS Y EL INCREMENTO SIGNIFICATIVO EN AMBAS A LOS 220 DÍAS, 90 DÍAS EN LAS SECUNDARIAS. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ Y *** $P < 0.001$. CONTROLES (C) Y EXPERIMENTALES (E).

DISCUSION

Los resultados del presente estudio muestran que la desnutrición prenatal afecta el desarrollo del núcleo rafe dorsal, principal productor de serotonina en el cerebro de la rata, valorado por los cambios morfométricos encontrados en cada uno de los tres tipos neuronales que configuran al NRD. El análisis de varianza de dos vías permitió observar los cambios producidos por la dieta y por la edad.

Las deficiencias producidas por una dieta hipoproteínica en los animales de 15 días, en los parámetros celulares de tamaño celular, extensión dendrítica y número de espinas en los tres tipos que configuran al NRD, indican retraso en el patrón de maduración celular, asociado por la falta de proteína durante el desarrollo embrionario, estas deficiencias persisten en las dendritas primarias a los 90 y 220 días en el número de dendritas de las células fusiformes, en la extensión lineal de las multipolares y en el número de dendritas y extensión lineal de las ovoides. El número de espinas dendríticas se encontró incrementado en ambas ramas primarias y secundarias en los tres tipos celulares, debido quizás a un efecto compensatorio por la disminución en el número y en la longitud de las ramas. Este efecto se refleja en una reducción del volumen y, tamaño de todo el NRD, mostrado por Díaz-Cintra y cols., '81 en los animales

desnutridos pre y posnatalmente que como se sabe también presentan reducciones en el tamaño y peso cerebrales según se demostró en estudios de Cintra y cols., '91.

Por lo que respecta al tipo de células que más se afectaron por causa de la desnutrición prenatal, se observó un mayor efecto en la multipolar seguida de la fusiforme, ambas involucradas en la producción de la serotonina. En un estudio similar utilizando desnutrición crónica pre y posnatal con una dieta hipoproteínica del 8% de caseína, Díaz-Cintra y cols., '81 encontraron disminuciones en el número de las dendritas primarias, en la extensión lineal de las dendritas secundarias y en el número de espinas a la edad de 90 días en las células fusiformes, las células multipolares mostraron incrementos significativos en el número de ramas secundarias y disminuciones en el número de espinas en ambas ramas a la edad de 90 días. Estos resultados muestran retardo en el desarrollo de las espinas dendríticas de los animales desnutridos. En este estudio, aplicando rehabilitación nutricional, el parámetro que mostró mayores cambios fue el número de espinas en los tres tipos celulares estudiados, los cuales presentaron aumentos significativos en ambas ramas primarias y secundarias en particular a los 90 y 220 días de edad, lo que demuestra un efecto de la desnutrición prenatal a largo plazo, hasta los 220 días de la vida del animal. Estos

efectos a largo plazo fueron reportados por Díaz-Cintra y cols., 91, en el giro dentado del hipocampo utilizando el mismo modelo de rehabilitación nutricional posnatal aunque la población analizada fue de las células granulares, las que se producen en parte durante la vida posnatal de la rata. Estas células granulares mostraron reducciones significativas en el número de las espinas dendríticas de la rama más larga. La población celular estudiada en el presente trabajo mostró incrementos significativos, en la densidad de espinas sin embargo, estos cambios se encontraron en los animales adultos, indicado un proceso compensatorio a largo plazo, un hallazgo similar ha sido reportado por Cravioto y cols., 76, en estudios de microscopía electrónica del número de sinapsis en la formación reticular del tallo cerebral, en ratas de 6 meses de edad, las que fueron desnutridas postnatalmente y rehabilitadas nutricionalmente desde los 43 días postnatales hasta los 6 meses de edad. Este hecho tiene particular importancia cuando se asocia con los estudios efectuados en animales desnutridos en cuanto a los niveles de neurotransmisores cerebrales, como la noradrenalina, dopamina acetilcolina y serotonina, por ejemplo Morqane y cols., 78, trataron de imitar las condiciones de desnutrición en humanos y estudiaron el efecto que produce la dieta del 8% antes de la preñez, durante la gestación, la lactancia y después del destete, analizaron los niveles de neurotransmisores como el de la 5-hidroxitriptamina (5-HT), en ratas desde el

nacimiento hasta los 300 días de edad, y encontraron elevados los niveles de 5-HT en el tallo cerebral y en el telencéfalo hasta en un 200% en los animales desnutridos, existiendo asociado un factor temporal para la elevación de la 5-HT. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que influyan otros factores cerebrales como los receptores de membrana y citoplásmicos que durante el crecimiento, estén involucrados en la producción de estos neurotransmisores. Así, nuestro estudio refleja de alguna manera estos cambios tanto en la morfología celular de las células productoras de serotonina como de los eventos de maduración y dinámica celular cerebral que ocurren durante el desarrollo. Estos cambios durante la maduración fueron también analizados por Kemper y Pasquier '78 en las formaciones subcorticales y West y Kemper, '76 en el desarrollo cerebral y Lewis y cols., '75 en el desarrollo de la generación celular afectada por la desnutrición en el periodo temprano del desarrollo y por Salas y cols., '74 en las poblaciones celulares corticales.

Como elemento adicional para explicar la falta en el aumento del número de espinas dendríticas en los animales de 15 días rehabilitadas, se sabe por los estudios de Morgane y cols., '78 Resnick, y cols., '79 y B2, que entre las edades de 6 y 16 días existen pocas diferencias en el incremento de la 5-HT entre los animales normales y los desnutridos debido a que en el desarrollo ontogenético el triptófano (precursor

de la serotonina) se disminuye por la aparición de la enzima triptófano pirrolasa.

La densidad de las espinas en ambas dendritas de los 3 tipos celulares del NRD, en los animales normales mostró incremento entre las edades de 15 y 90 días y luego decremento entre las edades de 90 y 220, este patrón de desarrollo dendrítico fué reportado previamente por Díaz-Cintra y cols., '81 entre las edades de 30 y 90 y entre 90 y 220 días en los tres tipos celulares estudiados en los animales control, hecho que refleja una pérdida funcional de las espinas en los animales de 220 días. Sin embargo, los animales desnutridos no presentaron este patrón de desarrollo entre los 15 y 90 días las células fusiformes y las multipolares no mostraron decrementos, sino incrementos, los que fueron significativos en las dendritas primarias. Entre las edades de 90 y 220 días se encontraron incrementos significativos en ambas ramas y en los tres tipos celulares estudiados, en lugar de decrementos como los controles. Estos hallazgos permiten entender que el patrón de desarrollo de espinas (sustrato de la sinaptogénesis) se encuentra retardado por efecto de la desnutrición prenatal, como la demuestran los estudios de Dyson y Jones, '76 ya que como podría esperarse, la eliminación de sinapsis no ocurre sino hasta después de los 220 días de edad, retardando el patrón de sinaptogénesis observado en los animales control.

CONCLUSIONES:

I. Efectos producidos por la desnutrición prenatal:

- a) La dieta produjo incrementos significativos en el eje mayor del soma y reducciones significativas en el eje menor, solo en las células multipolares del NRD.
- b) Los animales desnutridos prenatalmente y rehabilitados nutricionalmente mostraron incrementos en la densidad de espinas en los dos tipos de dendritas (primarias y secundarias), en los tres tipos celulares, estudiados por lo tanto, hay alteraciones a largo plazo en el soma de las células multipolares (productoras de serotonina en el tallo cerebral aún después de la rehabilitación nutricional).
- c) El aumento de espinas en los tres tipos celulares muestran recuperación estructural, principalmente en células ovoides y fusiformes esto es congruente con los aumentos en el número de sinapsis reportados.

II Efectos producidos por el factor edad:

- a) Hay cambios importantes en la densidad de las espinas dendríticas por efecto de la edad en los tres tipos celulares, mostrados como reducciones significativas en los animales controles en comparación con el patrón de desarrollo mostrado en los desnutridos y recuperados.
- b) Hay cambios significativos que muestran aumentos en el número de dendritas primarias en las células fusiformes y multipolares en animales control y los no desnutridos siguen este patrón ya que en las células fusiformes y multipolares se mantiene el mismo número.
- c) Al comparar las tres edades estudiadas se observó que la densidad de espinas dendríticas en los organismos control presentan reducciones, mientras que los desnutridos muestran aumento, indicando un posible retraso en el patrón de desarrollo de sinaptogénesis.
- d) El índice de desarrollo posnatal de la densidad de las espinas dendríticas en los organismos desnutridos y rehabilitados indican, que éste patrón de desarrollo se retrasa y por lo tanto se observa aumento en el número de espinas en las edades adultas de 90 y 220 días.

BIBLIOGRAFIA

1. Altman, J., Das, G. D., and Sudarshan, K. The influence of nutrition on neural and behavioral development. I. Critical review of some data on the growth of the body and the brain following dietary deprivation during gestation and lactation. *Develop. Psychobiol.*, 3(4): 281-301, 1970.
2. Azmitia, E. C. The serotonin-producing neurons of the midbrain median and dorsal raphe nuclei. En: I. Iversen, S. Iversen and S. Snyder (Eds.), *Handbook of Psychopharmacology*. Plenum Press, New York, 1978. pp. 233-314.
3. Azmitia, E. C., and Gannon, P. J. The primate serotonergic system: A review of human and animal studies and a report on *Macaca fascicularis*. 43, Raven Press., New York, 1986, pp. 407-468.
4. Barnes, D. and Altman. Effects of two levels of gestational lactational undernutrition on the postweaning growth of the rat cerebellum. *Expl. Neurol.* 38:420-428, 1974.
5. Belin, M. F., Aguera, M., Tappaz, M., McRae-Dequeurce, A., Bobillier, P., and Puig, J. F. GABA-accumulating neurons in the nucleus raphe dorsalis and periaqueductal gray in the rat: A Biochemical and Radioautographic Study. *Brain Res.*, 170: 279-297, 1979.
6. Bernal, J. D. *La Ciencia en la Historia.*, Ed. Nueva Imagen, México, D. F., 1979, pp. 626-628.
7. Bogdansky, D. F., Pletcher, A., Brodie, B. B., and Udenfriend, S. Identification and Assay of Serotonin in Brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 117: 82-88, 1956.
8. Braak, H. *Über Die Kerngebiete des Menschlichen Hirnstammes, II. Die Raphekerne.* *Z. Zellforsch.*, 107: 123-141, 1970.
9. Brodal, A., Taber, E., and Walber, F. The raphe nuclei of the brain stem in the cat. II. Efferent connections. *J. Comp. Neurol.* 114: 239-259, 1960.
10. Bronzino, J., Robert, A., LaFrance, A., and Morgane, P. J. Effects of protein undernutrition on perforant path kindling in the rat. *Brain Res.* 515: 45-50, 1990.

11. Chan-Palay, V., Jonsson, G., and Palay, S. L. Serotonin and substance P coexist in neurons of the rat central nervous system. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75: 1582-1586, 1978.
12. Chandra, R. K. Inmunología de los trastornos nutricionales., Ed. El manual moderno, Méx., D.F. 1982, pp. 1-8.
13. Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Galván, A., Kemper, T., and Morgane, P. J. Effects of protein undernutrition on the dentate gyrus in the rat of three age groups. Brain Res., 532: 271-277, 1991.
14. Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Kemper, T., and Morgane, P. J. Nucleus Locus coeruleus: A morphometric Golgi study in rats of three age groups. Brain Res., 247: 17-28, 1982.
15. Cravioto, J., y Arrieta, R. Nutrición, desarrollo mental, conducta y aprendizaje., DIF, Méx. D.F., 1985, pp. 6-11.
16. Curcio, C.A., and Kemper, T. Nucleus raphe dorsalis in dementia of the Alzheimer type: Neurofibrillary changes and neuronal packing density. J. Neuropath. Exp. Neurol., 43: 359-368, 1984.
17. Dahlström, A., and Fuxe, K. Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. Acta Physiol. Scand., 62 Suppl., 232: 1-55, 1964.
18. Danner, H., and Pfister, C. Unter Suchinger Sur Cytoarchitektonikdes Nucleus Raphe Dorsalis der Rate. J. Hirnforsch 21: 655-664, 1980.
19. Descarries, L., Beaudet, A., Watkins, K. C., and García, S. The serotonin neurons in nucleus raphe dorsalis of adult rat. Anat. Rec., 193: 520, 1979.
20. Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Galván, A., Aguilar, A., Kemper, T., and Morgane, P. J. Effects of prenatal protein deprivation on postnatal development of granule cells in the fascia dentata. J. Comp. Neurol. (en prensa).
21. Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O., and Morgane, P. J. The nucleus raphe dorsalis: a morphometric Golgi study in rats at three age groups. Brain Research 207: 1-16, 1981a.

22. Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, D., and Morgane, P. J. The effects of protein deprivation on the nucleus raphe dorsalis: A morphometric Golgi study in rats at three age groups. *Brain Res.* 221: 17-28, 1981b.
23. Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, D., and Morgane, P. J. Nucleus raphe dorsalis: A morphometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain Res.*, 207: 1-16, 1981.
24. Diaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, D., and 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.
25. Dobbing, J., and Sands, J. Vulnerability of developing brain; IX. The effect of nutritional growth retardation on the timing of the brain growth-spurt. *Biol. Neonate.*, 19: 363-378, 1971.
26. Dyson, S. E., and Jones, D. G. Some effects of undernutrition on synaptic development a quantitative ultrastructural study. *Brain Res.*, 114: 365-378, 1976.
27. Felten, D.L., and Sladeck J. Monoaminergic distribution in primate brain V. Monoaminergic nuclei anatomy pathways and local organization. *Brain Res. Bull.*, 10: 171-284, 1983.
28. Felten, D. L., and Cummings, J. P. The raphe nuclei of the rabbit brain stem. *J. Com. Neurol.* 187:199-244, 1979.
29. Felten, D. L., and Harrigan, P. Serotonergic dendrite bundles in nuclei raphe dorsalis and centralis superior of the rabbit. *Anat. Rec.*, p.196, 1980a.
30. Felten, D. L. and Harrigan, P. Dendrite bundles in Nuclei raphe dorsalis and centralis superior of the rabbit: A possible substrate for local control of serotonergic neurons. *Neurosci Lett.*, 16: 275-280, 1980b.
31. Fish, I. and Winick, M. Effect of malnutrition on regional growth of the developing rat brain. *Exp. Neurol.*, 25: 534-540, 1969.
32. Glazer, E. J. Steinbusch, H., Verhofstad, A., and Basbaum, A. I. Serotonergic neurons of the cat nucleus raphe dorsalis and paraventricularis contain enkephalin. *J. Physiol. (Paris)* 77: 241-245, 1981.

33. González-Richmond, A. Elección de un patrón de referencia para uso en vigilancia epidemiológica de la nutrición y el crecimiento. *Rev. Invest. Clin. (Méx.)* 39:131-136, 1987.
34. Grazanna, R., and Molliver, M. E. *Cytoarchitecture and dendritic morphology of central noradrenergic neurons.*, Raven Press, New York, 1980, pp. 83-97.
35. Hernández. R. J. Developmental pattern of serotonin synthesizing enzyme in the brain of postnatally malnourished rats. *Experientia* 29:1487-1488, 1973.
36. Holzel, B., and Pfister, C. Untersuchungen zur topographie und Zytoarchitektonick der raphe-kerne der ratte. *Hirnforsch.* 22: 697-708, 1981.
37. Iversen, L. L. Uptake processes for biogenic amines. En: L. L. Iversen, S. D. Iversen and S. M. Snyder (Eds.), *Handbook of Psychopharmacology. Biochemistry of biogenic amines.* Plenum Press, New York, 1979. pp.381-442.
38. Jelliger, K. Overview of morphological changes in Parkinson' s disease. In: M. D. Yahr and K.J. Bergmann eds.: *Advances Neurologv.* New York, Raven Press, pp. 1-18.
39. Jennes, L., Strum, W.E., and Kalivas, P.W. Neurotensin: Topographic distribution in rat brain by immunohistochemistry. *J. Comp. Neurol.* 210: 211-224. 1982.
40. Kemper. T. L., Pasquier, D. A., and Drazen, S. Effect of the low protein diet on the anatomical development of subcortical formations. *Brain Res. Bull.*, 3: 443-450, 1978.
41. Lewis, P. D., Balazs, R., Patel, A. J., and Jhonson, A. L. The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. *Brain Res.*, 83:235-247, 1975.
42. McConnell. P., and Berry. M. The effects of undernutrition on Purkinje cell dendritic growth in the rat. *J. Comp. Neur.*, 177: 159-172, 1978.
43. Miller, M., Leahy, J. P., McConville, P., Morgane, J., and Resnick, O. Effects of developmental protein malnutrition on tryptophan utilization in brain and peripheral tissues. *Brain Res. Bull.*, 2: 347-353, 1977.
44. Miller. M. J., Leahy, J. P., Stern, W. C., Morgane, P. J. and Resnick, O. Tryptophan availability: relation to elevated brain serotonin in developmentally protein - malnourished rats. *Exp. Neurol.*, 57: 142-157, 1977.

45. Moore, R. Y. The anatomy of central serotonin neuron systems in the brain., MIT Press., Cambridge, Mass, 1981, pp. 35-71.
46. Morgane, P. J., Miller, M., Kemper, T., Stern, W. C., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., and Kissane, J. L. The effect of protein malnutrition on the developing central nervous system in the Rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2: 137-230, 1978.
47. Olszewski, J., and Baxter, D. *Cytoarchitecture of the Human Brain Stem.* Basel: S. Karger. 1954.
48. Paxinos, G., and Watson, C. H. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates Atlas.* Academic Press, Sydney, 1982.
49. Petrovicky, P. Reticular formation and its raphe system. I. Cytoarchitectonics with comparative aspects. *Acta Univ. Carol. Med. (Praha)*, 99: 1-117, 1980a.
50. Petrovicky, P. Reticular formation and its raphe system I. cytoarchitectonics with comparative aspect. Prague: *Acta Univ. Carol. Med. Monogr.*, 99: 1-117, 1980b.
51. Pfister, V. C., and Danner, H. Fluoreszenzhistochemische und neurohistologische untersuchungen am nucleus raphed dorsalis der ratte. *Acta histochem.* 66: 253-261, 1980.
52. Rapport, M. M. Serum vasoconstrictor (Serotonin). V. The presence of creatinine in the complex. A Proposed structure of the vasoconstrictor principle. *J. Biol. Chem.*, 180: 961-969. 1949.
53. Reid, M., and Rand, M. Pharmacological actions of synthetic 5-hydroxytryptamine (serotonin, thrombocytin). *Nature* 169: 801-819, 1952.
54. Resnick, O., Miller, M., Forbes, W., Hall, R., Kemper, T., Bronzino, J. and Morgane, P. J. Developmental protein malnutrition: Influences on the central nervous system of the rat. *Neurosci. and Biobehav. Rev.*, 3: 233-246, 1979.
55. Resnick, O., Morgane, P.J., Hasson, R., and Miller, M. Overt and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. *Neurosci. Rev.*, 6: 55-75, 1982.
56. Salas, M. Effects of early malnutrition on the development of swimming ability in the rat. *Physiol. and Behav.*, 8: 119-122, 1971.

57. Salas, M., and Cintra, L. Nutritional influences upon somatosensory evoked responses during development in the rat. *Physiol. and Behav.*, 10: 1019-1022, 1973.
58. Salas, M., Diaz, S., and Nieto, A. Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Res.*, 73: 139-144, 1974.
59. Shoemaker, W. J., and Wurtman, P. J. Perinatal Undernutrition: Accumulation of catecholamines in the rat brain. *Science* 171: 1017-1019, 1971.
60. Sima, A., and Sourander, P. The effect of pre-and postnatal undernutrition on axonal growth and myelination of central motor fibers. *Acta Neuropath. (Berl.)*, 42:15-18, 1978.
61. Sobotka, T., Cook, M. P., and Brodie, R. E. Neonatal malnutrition: neurochemical, hormonal and behavioral manifestations. *Brain Res.*, 65: 443-457, 1974.
62. Steinbusch, H. W. M. Distribution of Serotonin-immunoreactivity in the cerebral nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Science.*, 6: 557-618, 1981.
63. Steinbusch, H.W. M. Nieuwenhuys, R., Verhofstad, A. A., and Van Der Kooy, D. The nucleus raphe dorsalis of the rat its projection upon the caudatoputamen, a combined cytoarchitectonic, immunohistochemical and retrograde transport study. *J. Physiol. (Paris)* 77: 157-174, 1981.
64. Stern, W.C., Morgane, P. J., Miller, M., and Resnick, O. Protein malnutrition in rats: Response of brain amines and behavior to foot shock stress. *Exp. Neurol.*, 47: 56-67, 1975.
65. Stern, W. C., Miller, M., Forbes, W. B., Morgane, P. J., and Resnick, O. Ontogeny of the levels of biogenic amines in various parts of the brain and in peripheral tissues in normal and protein malnourished rats. *Exp. Neurol.*, 49: 314-326, 1975.
66. Sugita, N. Comparative studies in the growth of cerebral cortex. VII. On the influence of starvation at an early age upon the development of the cerebral cortex, albino rat. *J. Comp. Neurol.*, 29: 177-240, 1918.
67. Taber, E. The Cytoarchitecture of the brain stem of the cat. I. Brain nuclei of cat. *J. Comp. Neurol.*, 116: 27-69, 1961.

68. Tork, I. Raphe nuclei and serotonin containing systems. In: *The rat nervous system*, Vol. 2. Hindbrain and spinal cord. Paxinos, G. (ed.), 43-78. 1985.
69. Takeuchi, Y., Kimura, H., and Sano, Y. Immunohistochemical demonstration of the distribution of serotonergic neurons in the brain stem of the rat and cat. *Cell Tissue Res.*, 224: 247-267, 1982.
70. Tonkiss, J. A., Cohen, C. A., and Sparber, S. B. Different methods for the producing neonatal undernutrition in rats cause different brain changes in the face of equivalent somatic growth parameters. *Dev. Neurosci.* 10: 141-151, 1988.
71. Twarog, B.M. and Page, I.H. Serotonin content of some mammalian tissues and urine method for its determination. *Am. J. Physiol.*, 175:157-161, 1953.
71. Vialli, M., and Erspamer, V. Cellule enterocromaffini e cellule basigranulose acidofile nei vertebrati. *Z. Zelforsch.* 19: 743-744, 1933.
72. Warren, M. A., and Bedi, K. S. The effects of a length period of undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the granule-to-Purkinje cell ratio in the rat cerebellum. *J. Anat.*, 159: 147-153, 1988.
73. West, C. D., and Kemper, T. The effect a low protein diet on the anatomical development of the rat brain. *Brain Res.* 107: 221-237, 1976.
74. Wiggins, R. C., Sheldon, L., Miller, L., Joyce, A., Krioman, M. R., and Morell, P. Myelin synthesis during postnatal nutritional deprivation and subsequent rehabilitation. *Brain Res.*, 107: 257-273, 1976.
75. Wiklund, L., Leger, L., and Persson, M. Monoamine cell distribution in the cat brain stem: A fluorescence histochemical study quantification of indolaminergic and locus coeruleus cell groups. *J. Comp. Neurol.*, 203:613-647, 1981.
76. Winick, M., and Noble, A. Cellular response in rats during malnutrition at various ages. *J. Nutr.*, 89:300-306, 1966.
77. Zweig, R. M., Ross, C. A., Hedreen, J. C., Cardillo, J. E., White-House, P. J., Folstein, M. F., and Price, D. L. The neuropathology of aminergic nuclei in Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.*, 24: 233-242, 1988.