



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"ESTUDIO COMPARATIVO DEL VOLUMEN DE LA CAPA GRANULAR Y DEL SISTEMA DE FIBRAS MUSGOSAS DE LA FORMACIÓN HIPOCÁMPICA EN RATAS MACHO Y HEMBRA BAJO MALNUTRICIÓN HIPOPROTEÍNICAS PRENATAL"

T E S I S P R O F E S I O N A L

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

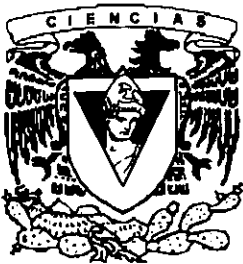
B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

NORMA

SERRANO

GARCIA



Directora de Tesis:
M. en C. Leticia Granados Rojas

Asesora de Tesis:
Dra. Sofía Díaz-Cintra

MÉXICO



2000

276274



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: Estudio comparativo del volumen de la capa granular y del sistema de fibras musgosas de la formación hipocámpica en ratas macho y hembra bajo malnutrición hipoproteínica prenatal.
realizado por Norma Serrano García

con número de cuenta 8925840-0 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

M. en C. Leticia Granados Rojas

Director de Tesis
Propietario M. en C. Leticia Granados Rojas
Propietario Dra. Sofía Y. Díaz-Cintra
Propietario Biol. Araceli Vences Mejía
Suplente Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina
Suplente Biol. Gabriel López Velázquez

[Handwritten signatures]
CANCEZ

FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.



Consejo Departamental de Biología

Edna M. Suárez D.

Dra. Edna María Suárez Díaz
Coordinadora de Licenciatura

DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

A menos que Jehová mismo
edifique la casa de nada vale
que sus edificadores hayan
trabajado duro en ella.

La bendición de Jehová...
eso es lo que enriquece...

Por eso daré gracias oh
Jehová entre las naciones.

(Sal. 127:1, Prob. 10:22, 2Sam. 22:50)

Dedicó esta tesis a:

Mis padres Irma y Sergio por su estímulo y apoyo en mi vida académica, por el amor y gran paciencia que me brindaron en todos estos años.

A mi hermano Edmundo por su ayuda en el cuidado de la casa mientras yo dedicaba tiempo en la realización de la misma.

A Israel por su incondicional apoyo, amor, paciencia y cuidados hacia mi y la casa mientras yo me la pasaba escribiendo la tesis.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco las facilidades brindadas por el centro de Neurobiología UNAM en cuanto al material y animales utilizados para la realización de la tesis.

A los apoyos de las becas de PROBETEL y del PAPIT. Proyecto Número I-209195 de la UNAM que me permitieron la realización de la tesis.

A las autoridades del Instituto Nacional de Pediatría: Dr. Roberto Rivera Luna, Dr. Ismael Lares, Dra. Sara Frías por permitir la realización del trabajo en dicha institución.

A los miembros del Centro de Neurobiología de la UNAM: Azucena, Pilar, Gabriel, Ivett y Agustín por su amistad y enseñanza que me brindaron.

Así mismo colegas y compañeros del Instituto Nacional de Pediatría: Araceli, Gloria, Heriberto y Emelia.

Agradezco de manera especial a la *Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda* y la *M. en C. Leticia Granados Rojas* por su enseñanza, paciencia (con todo el esplendor de la palabra), comprensión y ayuda a lo largo de estos cuatro años de compartir con ellas, para adquirir todo este conocimiento y poner en práctica en mi vida académica.

ÍNDICE

ÍNDICE	1
RESUMEN	3
ANTECEDENTES	4
SISTEMA NERVIOSO Y SU IMPORTANCIA	4
FORMACIÓN HIPOCÁMPICA	5
<i>Localización</i>	5
<i>Citoarquitectura</i>	5
ONTOGENIA DEL HIPOCAMPO	8
CÉLULAS GRANULARES Y FIBRAS MUSGOSAS	10
ESTUDIOS SOBRE LOS EFECTOS DE LA DESNUTRICIÓN Y MALNUTRICIÓN SOBRE EL HIPOCAMPO	11
<i>Conducta</i>	12
<i>Fisiología</i>	12
<i>Morfología</i>	13
DIMORFISMO SEXUAL	15
<i>Conducta</i>	15
<i>Fisiología</i>	15
<i>Anatomía</i>	15
<i>Plasticidad</i>	17
JUSTIFICACIÓN	19
HIPÓTESIS	20
OBJETIVO GENERAL	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
MATERIAL Y MÉTODOS	22
ANIMALES	22
TRATAMIENTO NUTRICIONAL	22
REPRODUCCIÓN	22
FORMACIÓN DE GRUPOS	23
PROCEDIMIENTO HISTOLÓGICO	24
<i>Perfusión</i>	24
<i>Tinción</i>	24
ESTEREOLOGÍA	24
ANÁLISIS ESTADÍSTICO E INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS	25
RESULTADOS	27
PESO CORPORAL Y CEREBRAL	27
CAPA GRANULAR TOTAL	28
DIFERENCIAS POR CONDICIÓN NUTRICIONAL	29
<i>Machos</i>	29
<i>Hembras</i>	29
DIFERENCIAS POR GÉNERO	29
<i>Grupos controles</i>	29

<i>Grupos malnutridos prenatalmente</i>	29
SISTEMA DE FIBRAS MUSGOSAS	34
DIFERENCIAS POR CONDICIÓN NUTRICIONAL	35
<i>Machos</i>	35
<i>Hembras</i>	35
DIFERENCIAS POR GÉNERO	35
<i>Grupos controles</i>	35
<i>Grupos malnutridos prenatalmente</i>	35
DISCUSIÓN	40
CAPA GRANULAR	40
FIBRAS MUSGOSAS	43
CONCLUSIONES	47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

RESUMEN

La malnutrición prenatal es un agente nocivo que altera la morfología de la formación hipocámpica sobre todo en ratas macho adultos. Sin embargo, no existen estudios de morfometría que analicen los efectos de la malnutrición prenatal en hembras, por lo que en el presente trabajo se estudió el efecto de la malnutrición hipoproteínica prenatal sobre el volumen de la capa granular y el volumen ocupado por el sistema de fibras musgosas de la formación hipocámpica en ratas de ambos sexos. Con el fin de detectar si existen cambios dimórficos sexuales en esta estructura se analizaron los cambios en el volumen de estas regiones entre ratas machos y hembras de la misma condición nutricional. La malnutrición prenatal se alcanzó proporcionando una dieta baja en caseína (6%) a ratas hembras de la cepa Sprague Dawley durante cinco semanas antes del apareamiento y durante toda la gestación. Al momento del nacimiento, las crías fueron asignadas a madres nodrizas alimentadas con una dieta normal al 25% de caseína. Se formaron cuatro grupos con 6 animales en cada uno: 1) machos control, 2) machos malnutridos prenatalmente, 3) hembras control y 4) hembras malnutridas prenatalmente. Los animales se sacrificaron a los 30 días de edad posnatal. Se perfundieron con una solución de sulfuro de sodio y buffer de fosfatos, se extrajo el encéfalo y se procesó con la técnica histoquímica de Timm (específica para evidenciar el plexo musgoso y la laminación de la formación hipocámpica). Se cuantificó por medio de técnicas estereológicas, el volumen de la capa granular y del sistema de fibras musgosas de la formación hipocámpica (estructura relacionada con los procesos de aprendizaje y memoria espacial de la rata). Los resultados no mostraron cambios significativos en el volumen de la capa granular y del sistema de fibras musgosas en machos malnutridos. Sin embargo, el volumen de estas regiones se redujo significativamente en las hembras malnutridas prenatalmente. Las comparaciones entre machos y hembras control indicaron que el volumen de la capa granular no es diferente entre ambos grupos y que el volumen del sistema de fibras musgosas es menor en hembras. Se observó además que en las ratas hembras malnutridas prenatalmente el volumen es menor en ambas regiones. Así, estos resultados indican una respuesta diferencial en el hipocampo ante la malnutrición prenatal dependiente del género en animales jóvenes; las ratas hembras son más susceptibles a la malnutrición prenatal que los machos. Además, el volumen de la capa granular no presentó características dimórficas sexuales en comparación con el volumen del sistema de fibras musgosas el cual es menor en las hembras. En los animales malnutridos también se observó que el volumen de las tres regiones analizadas es menor en las hembras comparado con los machos. Esto sugiere que existen deficiencias en la información transmitida a través del circuito hipocámpico, ya que las células granulares representan el primer elemento de dicho circuito y son componentes complementarios de la primera y segunda sinapsis. La importancia de este circuito es por su relación con los procesos de memoria de tipo espacial y del aprendizaje en la rata.

ANTECEDENTES

SISTEMA NERVIOSO Y SU IMPORTANCIA

Las funciones principales del Sistema Nervioso (SN) son: detectar, transmitir, analizar y utilizar la información generada por los estímulos sensoriales internos y externos para organizar y coordinar directa o indirectamente las funciones del organismo. Así, el SN asegura la regulación de todos los procesos vitales de los organismos y su correlación con el medio ambiente (Chusid, 1977).

Anatómicamente el sistema nervioso central (SNC) o encéfalo es la porción anterior modificada y agrandada que esta cubierta por tres membranas protectoras (meninges) y encerrada dentro de la cavidad craneana. Se divide en corteza cerebral, ganglios basales, tálamo e hipotálamo, mesencéfalo, tallo cerebral y cerebelo esta división provee una base para estudiar las localizaciones encefálicas (Chusid, 1977).

El SNC es una estructura muy sensible a diversos factores medioambientales nocivos como la desnutrición, el alcoholismo y la drogadicción entre otros, los cuales alteran su desarrollo (Dyson y Jones, 1976; Baraban y Schwartzkroin, 1997). Si alguno de estos factores nocivos se presenta en el "período crítico" de crecimiento cerebral rápido, comprendido entre el estado fetal temprano y entre el tercero o cuarto año de vida posnatal del individuo (Dobbing, 1976; Cintra y Díaz, 1985) puede causar daños cerebrales como actividad mental subnormal en la etapa adulta. Además dependiendo en la etapa en que se presente la desnutrición, ésta puede ser reversible o no. Estudios previos han reportado que mientras ciertos animales al nacer muestran sus sistemas sensoriales maduros, otros como los altricios comienzan a madurar sus estructuras y los sistemas sensoriales después del nacimiento, como es el caso de la rata y del ser humano (figura 1).

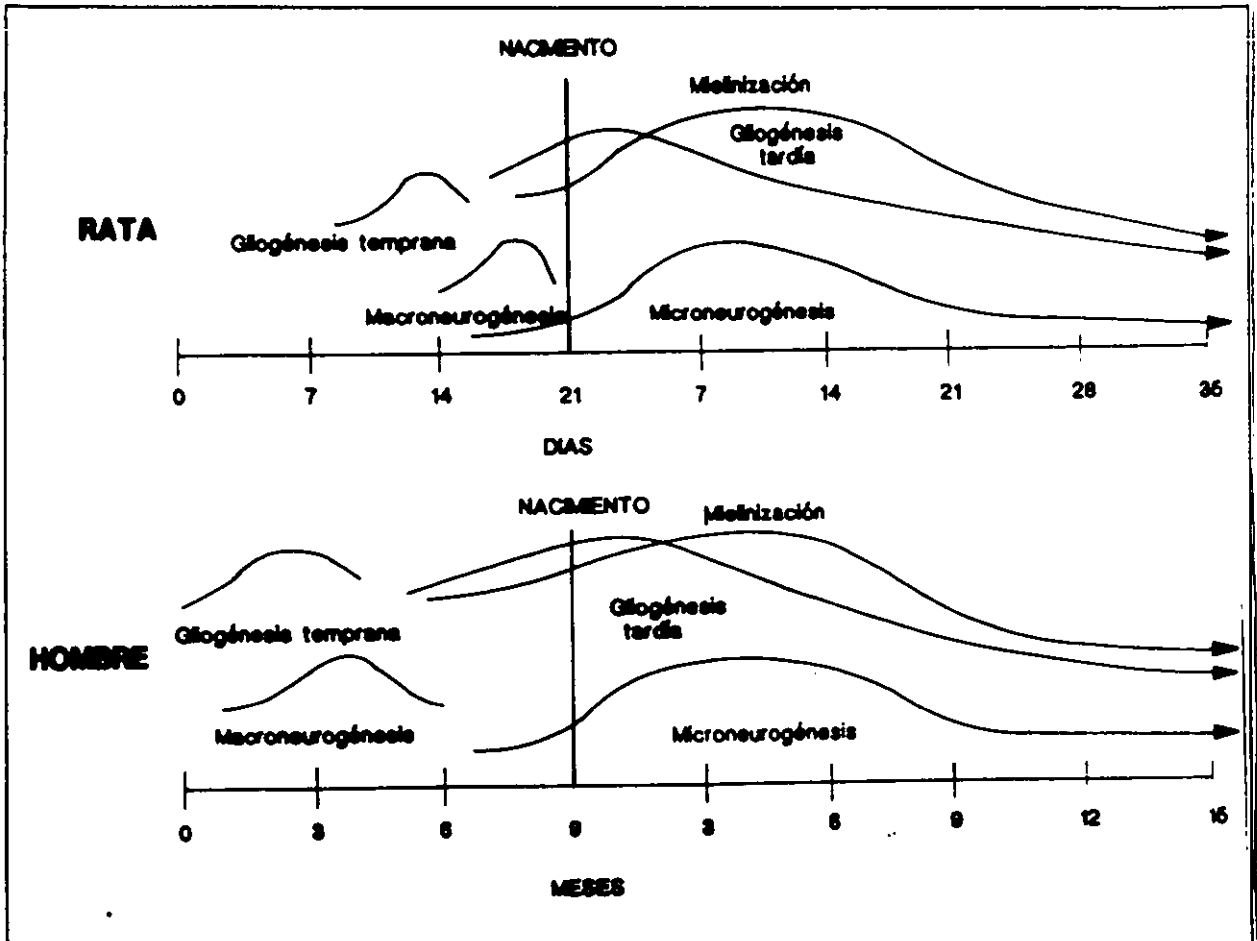


Figura 1. Esquema comparativo de los eventos de desarrollo del sistema nervioso en la rata y en el hombre. Se muestran los eventos del desarrollo están mostrados con relación al nacimiento, en ellos se evidencia la maduración de las distintas neuronas. Las curvas con flecha de mielinización, gliogénesis tardía y microneurogénesis indican su continuidad de maduración en el período postnatal.

FORMACION HIPOCAMPICA

Localización

La formación hipocámpica (FH) está ubicada por debajo del cuerpo caloso y en el humano ocupa el 20% de la corteza cerebral. Es una estructura arqueada en forma de "C" que se extiende rostro-dorsal y caudo-ventral desde el núcleo septal hasta el lóbulo temporal. En roedores el volumen del hipocampo es aproximadamente de 6.5 mm^3 y ocupa la mayor parte de las paredes ventro lateral y posterior de la corteza cerebral (Amaral y Witter, 1989). Una parte importante de la FH es el giro dentado o *fascia dentata* (GD) que es una estructura estrecha constituida por una banda delgada y estratificada, rodeada por el *Cornnu de Ammon* desde la zona rostral hasta la caudal, adquiriendo la forma curveada de la FH. Además se considera que la FH es una estructura arquicortical prominente que constituye un complejo neuronal extenso en el cerebro de los mamíferos a la cual se le reconoce como una porción del sistema límbico (Nauta y Feirtag, 1987).

Citoarquitectura

La FH fue descrita por Ramón y Cajal en 1911, y posteriormente Lorente de Nó (1934) la dividió de la siguiente manera: a) la corteza entorrinal la cual en roedores se divide en media y lateral; b) el complejo subicular, subdividido en: el subiculum, presubiculum y parasubiculum; c) el propio hipocampo o *Cornnu de Ammon* con sus cuatro campos y d) el giro dentado (Amaral y Witter, 1989). Esta organización anatómica la presentan los primates, los murínidos y el hombre.

El *Cornnu de Ammon* y el GD de los mamíferos esta formado por tres tipos de neuronas: a) piramidales, b) granulares y c) una gran variedad de interneuronas, entre las que se encuentran las células en cesta ó GABAérgicas.

Las neuronas piramidales del hipocampo, presentan árboles dendríticos apicales y basales, su soma mide de 20 a 40 μm , y se encuentra formando la capa piramidal en cada uno de los cuatro campos del *Cornnu de Ammon* (CA): CA1, CA2, CA3 y CA4 (Lorente de Nó, 1934). Las células piramidales de la región

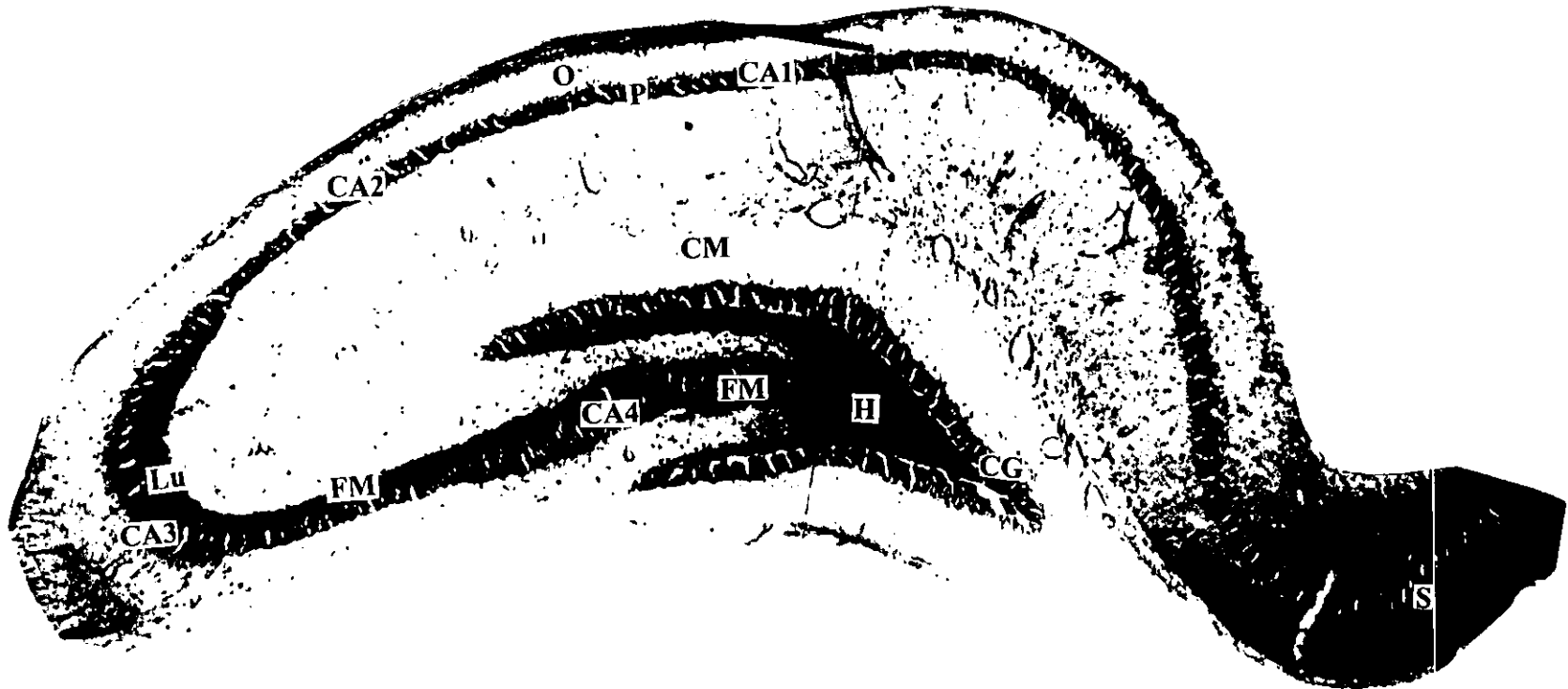


Figura 2. Fotografía de un corte frontal de la formación hipocámpica, teñida con la técnica de Timm y contrastada con violeta de Cresilo. FM = fibras musgosas, CG = capa granular, H = región hiliar, CM = capa molecular, O = *stratum oriens*, P = *stratum pyramidale*, Lu = *stratum lucidum*, S = subiculum y CA = Cornu de Ammon.

del CA3 y CA2 tienen de una a tres dendritas apicales primarias originadas en el soma. El árbol se ramifica en cuatro o más dendritas apicales secundarias gruesas, y las basales se dividen en dos y siete dendritas primarias. Las células piramidales del CA1 muestran de una a dos dendritas apicales primarias que no se dividen y tienen de una a cinco dendritas basales primarias (Ishizuka y cols., 1995).

Las neuronas granulares que son exclusivas del GD o fascia dentada forman la capa granular (éstas se observan mejor en preparaciones impregnadas con la técnica de Golgi, la cual muestra sus dendritas y las porciones proximales de los axones). El soma de estas células es relativamente pequeño de 8-12 μm de diámetro; presentan una dendrita primaria la cual da origen a un árbol secundario que forma la capa molecular (Cowan y cols., 1980).

El otro elemento celular lo integran las neuronas GABAérgicas que se pueden encontrar en toda la formación hipocámpica pero son más abundantes en la región hiliar del GD, su función inhibitoria es muy importante, dado que sus axones ramificados de una manera extensa establecen sinapsis con los axones y los cuerpos celulares tanto de células piramidales como granulares regulando su actividad (Thompson, 1994).

Con base a la disposición y características de las neuronas de la FH, así como de las conexiones, el GD y el hipocampo se han dividido en capas o estratos. En el GD se localizan tres capas: la capa molecular o plexiforme que se encuentra formada por dendritas terminales de las células granulares; la intermedia o granular dentada está formada por los cuerpos o somas de las células granulares, los cuales se distribuyen en dos capas: una suprapiramidal (labio dorsal) y una infrapiramidal (labio ventral) con respecto a las células piramidales. La capa hiliar esta formada por células polimórficas y piramidales cuyos axones se proyectan hacia la capa molecular; dentro de esta zona se localizan también las fibras musgosas que emergen de las células granulares del GD, estas fibras se dirigen hacia la zona de excrecencias torneadas de las células piramidales del campo CA3 del hipocampo (figura 2).

El propio hipocampo o *Cornu de Ammon* esta formado por varias capas o estratos que son: *oriens*, *piramidal*, *radiatum*, *lacunosum-moleculare* y *lucidum* (figura 2). El *stratum oriens* presenta células GABAérgicas, las dendritas basales y los axones de las células piramidales que se distribuyen horizontalmente. En el *stratum piramidal* se localizan principalmente los somas de las células piramidales. Dentro de esta división se encuentra una capa acelular profunda la cual se ha dividido en *strata radiatum* y *lacunosum-moleculare*, que están formados por los plexos densos de las dendritas de las células piramidales (Chronister y White, 1975). El *stratum lucidum* está localizado en el campo CA3 de la FH, donde se establecen las conexiones de los axones de las células granulares con el primer tercio de las dendritas de las células piramidales. El propio hipocampo y el GD están separados por la fisura hipocámpica.

Dentro de la formación hipocámpica existe un circuito bien definido al cual se le ha denominado circuito trisináptico hipocámpico. Al hipocampo llegan aferencias del área entorrinal, de la región septal, del cíngulo y del hipocampo contralateral. Pero la aferencia más importante proviene de la corteza entorrinal, y se le conoce como patrón perforante. Estas fibras entran a la capa molecular del GD perforando la capa piramidal del subiculum y haciendo sinapsis con las espinas y árboles dendríticos de las células granulares del GD, formando el primer relevo del circuito trisináptico. Los axones de las células granulares que en su conjunto se denominan sistema de fibras musgosas conectan con las excrescencias torneadas de las células piramidales del campo CA3 los que constituyen el segundo relevo de este circuito. Los axones de las células piramidales de esta zona, conocida como colaterales de Schaffer, terminan principalmente en el *stratum radiatum* de la región CA1 del hipocampo donde hacen sinapsis con las dendritas de las neuronas piramidales de esta región, este es el tercer relevo del circuito del hipocampo. De esta zona surgen proyecciones hacia la corteza subicular adyacente como a las capas profundas de la corteza entorrinal cerrando de esta manera el circuito trisináptico de la FH (figura 3). Este circuito se encuentra controlado por un sistema intrínseco de neuronas

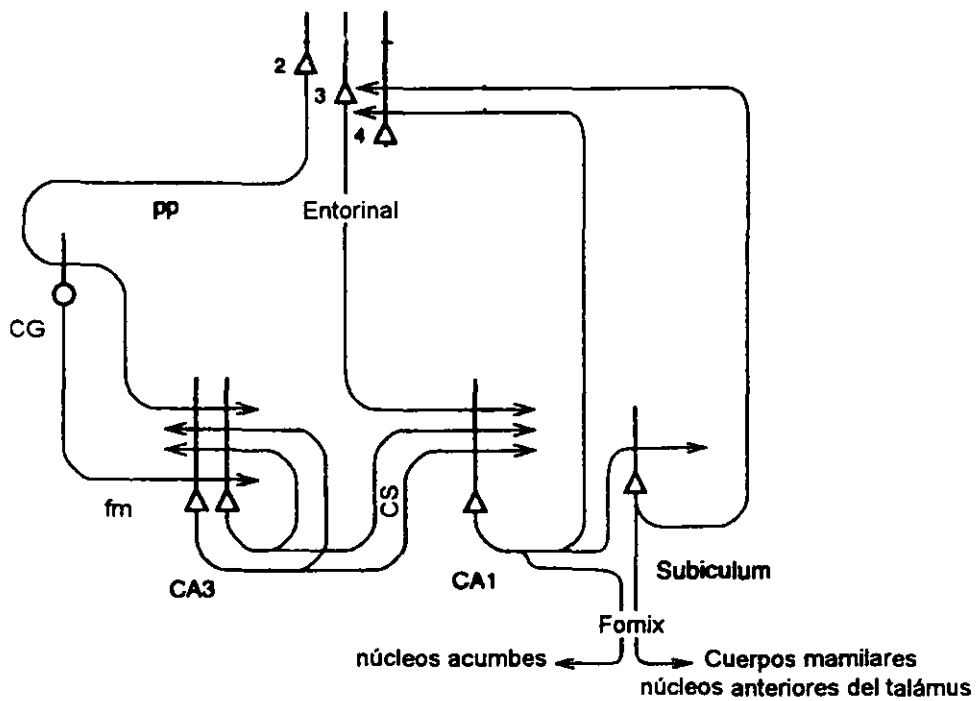


Figura 3. Circuito trisináptico de la formación hipocámpica. CG = células granulares, fm = fibras musgosas, pp = patrón perforante, CS = colaterales de Schaffer, 2, 3 y 4 = células piramidales de la capa dos, tres y cuatro de la corteza entorrinal.

GABAérgicas que inhiben a las neuronas piramidales y granulares. Durante el desarrollo los factores externos o medioambientales afectan a este circuito, como más adelante se especifica. (Soriano y Frotscher, 1989; Parra, 1995; Granados y cols., 1995).

ONTOGENIA DEL HIPOCAMPO

El Sistema Nervioso tiene su origen en el tubo neural del que se derivan los constituyentes del SNC y del periférico (SNP). Durante el desarrollo embrionario el SNC se forma a partir de dilataciones del tubo neural como el prosencéfalo, que da origen al telencéfalo y éste al rinencéfalo (zona más primitiva de la corteza cerebral). En el humano los primeros indicios sobre el primordio del hipocampo se observan aproximadamente en el 4º mes fetal (Márquez-Orozco, 1991) y en la rata entre los días embrionarios (E) 15 al 17 (Bayer, 1980).

El tejido que constituye al hipocampo, se origina del neuroepitelio indiferenciado ectodérmico, el cual a través del tubo neural se divide y posteriormente sus células migran. Altman y Bayer (1990c) observaron por medio de radiogramas de timidina en embriones de rata tres componentes del neuroepitelio hipocámpico: el primero es evaginante adyacente al subiculum (neuroepitelio Ammónico), el segundo es invaginante alrededor del GD (neuroepitelio dentado) y el tercero cerca del rudimento hipocámpico (glioepitelio fimbrial).

Del neuroepitelio indiferenciado se generan las neuronas grandes (macroneuronas) del hipocampo, células granulares pequeñas (microneuronas) del giro dentado y células gliales de la fimbria (Altman y Bayer, 1990a).

El 15% de las células granulares del GD se generan antes del nacimiento aproximadamente por el día E14 y durante el desarrollo posnatal (P) el 85% de estas células se forman durante las primeras tres semanas, alcanzando una máxima proliferación en los días P1 al P5 (Altman y Bayer, 1990c). Mientras que el neuroepitelio Ammónico comienza a producir las primeras células piramidales durante los días E17 al E20, su migración es en el día E21 quedando establecidas

en los campos CA3 y CA1 en el día E22 (Altman y Bayer 1990b). Las células piramidales generan y diferencian sus dendritas apicales después de las basales. Las primeras espinas de estas células se generan en las dendritas apicales durante la segunda y tercera semanas posnatales. Las espinas de las células granulares se observan en las dendritas en el día P7 y son más claras en el P10 (en preparaciones impregnadas con la técnica de Golgi) (Zimmer, 1978).

Las células piramidales comienzan a generarse en la etapa embrionaria en el día E16 y el estrato piramidal se visualiza en el día E18 estableciéndose como tal en el día E22 (Altman y Bayer, 1990b). El desarrollo del estrato granular es posnatal y tiene un pico de proliferación granular en los días P1 al P5 en la capa infrapiramidal (labio ventral) período en el que se genera el 42.5% de todo el estrato, el 32.9% del estrato se genera cerca del día P10 en la capa suprapiramidal (labio dorsal). El labio dorsal es el primero que comienza a expandirse y no es sino hasta el P20 que el labio ventral se incrementa. En este periodo la capa polimórfica también se establece. La capa granular se incrementa durante la infancia y el periodo juvenil (Altman y Bayer, 1990c). Desde el día P9 se observan las tres subdivisiones del estrato molecular en preparaciones teñidas con la técnica de Timm (Zimmer, 1978).

La organización y maduración de las fibras musgosas depende del tiempo de origen de las células granulares (Gaarskjaer, 1978). Dichas fibras se han estudiado con el método de Timm en diferentes diseños experimentales (Cintra y cols., 1997a; West y cols., 1984). Se les observa desde el primer día posnatal en la parte lateral de la zona hiliar y cerca del campo CA3 en el estrato piramidal. En el tercer día posnatal, las fibras se tiñen en el *stratum lucidum* y en el *hilus* del área dentada. Entre el quinto y séptimo día comienzan a observarse en las zonas infra e intrapiramidal y a diferenciarse en toda la zona inferior del hipocampo. Entre los días décimo y onceavo se observa tanto la zona inferior como el *hilus* y la zona superior, en estos días las fibras se dirigen hacia la región septo-temporal del hipocampo. Del doceavo al quinceavo día, las fibras musgosas se incrementan más intensamente en la parte distal de la región inferior. Cerca de los 30 días

después del nacimiento, los botones de las fibras musgosas continúan incrementándose en tamaño y la densidad aumenta en todos los niveles, (Zimmer, 1978; Amaral y Dent, 1981; Gaarskjaer, 1985).

Todo el proceso ontogenético se encuentra esencialmente determinado por factores genéticos y en los últimos estadios del individuo por factores externos, lo cual es determinante en el establecimiento de toda la citoarquitectura. (Díaz-Cintra y Ortega, 1991).

CELULAS GRANULARES Y FIBRAS MUSGOSAS

Como ya se mencionó, las células granulares poseen axones amielínicos denominados fibras musgosas que en conjunto forman el *sistema de fibras musgosas* (FM). Estas fibras siguen su recorrido haciendo sinapsis con una gran diversidad de neuronas polimórficas en la región ipsilateral hilar del GD y también se proyectan hacia las dendritas basales de las células piramidales de CA3 (Cavazos y cols., 1992; Gaarskjaer, 1978). Su nombre se debe a que Ramón y Cajal en 1911, las observó en preparaciones teñidas con la técnica de Golgi, donde detectó botones gigantes que hacen sinapsis con las células piramidales del CA3 semejantes a un musgo. Estas terminales nerviosas son ricas en zinc (Frederickson y Danscher, 1990), lo cual permite su tinción con la técnica histoquímica de Timm para evidenciar dichos botones sinápticos gigantes (West y cols., 1984; Zimmer y Haug, 1978).

Por otra parte el sistema de fibras musgosas se ha dividido en: haz suprapiramidal, haz infrapiramidal y zona hilar. El haz suprapiramidal del sistema de fibras musgosas (HSSFM) se localiza por arriba de las células piramidales de la FH, iniciando en el CA4 hasta terminar en el *estratum lucidum*. El haz infrapiramidal del sistema de fibras musgosas (HISFM) ubicado por debajo de las células piramidales del hipocampo llegando hasta el *estratum lucidum*. La mayor cantidad de fibras se encuentran en la zona hilar (H), localizada en el GD entre los labios dorsal y ventral de esta estructura (figura 4) (West y Hodges-Savola, 1983).

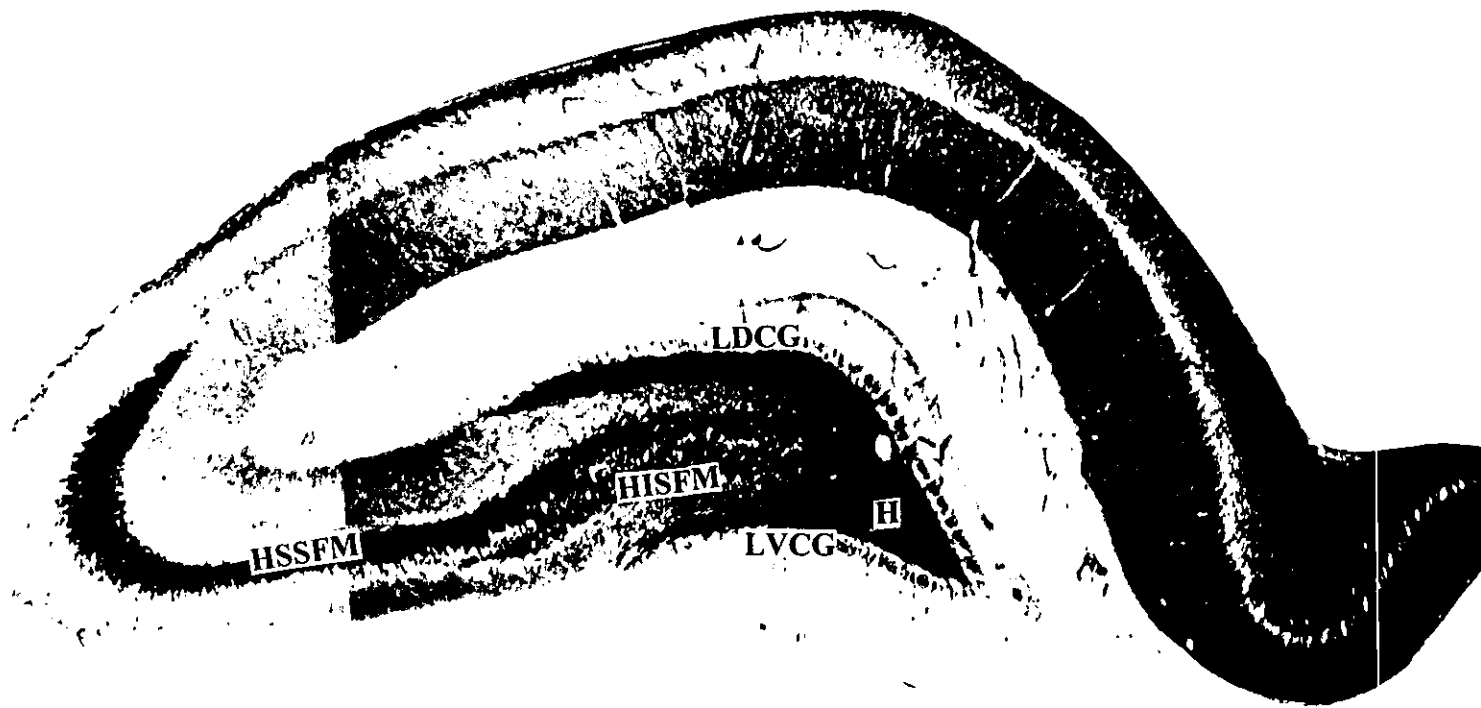


Figura 4. Fotomicrografía de un corte medial de la formación hipocámpica, indicando las distintas regiones analizadas de la capa granular y del sistema de fibras musgosas. LDCG = labio dorsal de la capa granular, LVCG = labio ventral de la capa granular, HSSFM = haz suprapiramidal del sistema de fibras musgosas, HISFM = haz infrapiramidal del sistema de fibras musgosas, H = región hiliar del sistema de fibras musgosas. 94x.

Las FM tienen un papel importante en el proceso de aprendizaje y memoria, además en los cambios conductuales del individuo, como muestran los estudios de Crusio y Schwegler (1987). En este trabajo se observó que las cepas de ratones que tienen campos terminales de fibras musgosas mayores son más eficientes en el procesamiento de la información espacial.

ESTUDIOS SOBRE LOS EFECTOS DE LA DESNUTRICIÓN Y MALNUTRICIÓN SOBRE EL HIPOCAMPO

La malnutrición es un problema que atañe a la humanidad desde hace décadas. En países en vías de desarrollo esta asociada con la pobreza, pero también es común en países desarrollados en donde la causa es una deficiente selección de alimentos (Scheider, 1985).

Existen tres tipos de nutrición inapropiada: a) malnutrición, en cuyo caso existe ausencia de un nutrimento específico (e.g., proteínas y vitaminas), b) desnutrición, se da por reducción en calorías, proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y/o varios elementos traza y c) sobrenutrición, existe un exceso de macro y de micronutrientes (McLaren, 1981; Durán, 1995). La mala alimentación afecta principalmente a los individuos durante los primeros años de la vida, lo que conlleva a la alteración de su desarrollo normal. Además, la malnutrición se considera un aspecto complejo biológico, psicológico y social, alguno de los tres factores predispone al individuo a la malnutrición y a prácticas conductuales que se transmiten de una generación a otra (Morgane y cols., 1993).

En la FH el estudio de la malnutrición ocupa un lugar preponderante por su relación en el desarrollo e integración de procesos mentales como el aprendizaje y la memoria (Rolls, 1996). Además, sus conexiones con otras estructuras del sistema límbico como la amígdala y la circunvolución del cíngulo, con el hipotálamo y el núcleo rafe (Nauta y Feirtag, 1987) hace que participe en otras funciones regulatorias sensoriales importantes tales como las viscerales, endocrinas y conductuales del individuo. Por otro lado se sabe que la nutrición adecuada es un factor importante en la maduración y función del desarrollo del

SNC. La malnutrición puede afectar el desarrollo del cerebro y sus funciones, aunque los efectos finales de ésta, dependen del individuo y de diversos factores medioambientales. Si la malnutrición se presenta en el período crítico, sea pre ó posnatalmente los efectos por la falta de nutrimento, repercuten en la morfología, fisiología y neuroquímica del SN, produciendo un alto impacto sobre las funciones de éste, particularmente en el aspecto cognitivo (Morgane y cols., 1993).

Conducta

Los individuos malnutridos y desnutridos muestran alteraciones en el comportamiento social en general, son más bien agresivos (García-Ruíz y cols., 1994; Franková, 1973), presentan retardo en la aparición de las primeras conductas de exploración y una respuesta emocional exagerada (García-Ruíz y cols., 1994) e hiperactividad (Laughlin y cols., 1984; Salas y Torrero, 1979). Las ratas madres desnutridas son poco eficientes en la construcción del nido además de presentar un cuidado inadecuado de las crías y de su traslado (Salas y Torrero, 1979).

Fisiología

La maduración de patrones motores reflejos (Altman y cols., 1971) se retrasa en los individuos malnutridos resultando en la incapacidad de erguir la cabeza (Cravioto y Arieta, 1985). Los registros encefalográficos en animales malnutridos prenatalmente han mostrado que son incapaces de iniciar y mantener la potenciación a largo plazo (LTP) (Bronzino y cols., 1991), por un cambio en el balance entre la actividad excitatoria e inhibitoria del GD, la causa es un aumento en la actividad inhibitoria de las interneuronas (células GABAérgicas), lo que no permite que se integre adecuadamente el primer relevo del circuito trisináptico lo cual provoca cambios conductuales y electrográficos del individuo a largo plazo (Bronzino y cols., 1990, 1991).

Morfología

La mayoría de los estudios experimentales analizan los efectos de la desnutrición en los periodos pre y posnatal. Fish y Winick (1969) empleando el método de desnutrición por competencia, es decir aumentando el número de crías en la camada encontraron disminución en la síntesis del DNA en el hipocampo a partir del día P14, y reducción en el número de las células. La restricción del alimento en el periodo posnatal es otro método para producir desnutrición usado por Katz y cols. (1982), quienes encontraron alteraciones en el grosor del área hipocámpica, en el peso y en el tamaño del cerebro (Katz y Davies, 1983).

Por otro lado, el método de malnutrición en el cual se aplican dietas bajas en proteína como la caseína al 6% (Morgane y cols., 1993; Bronzino y cols., 1990; Díaz-Cintra y cols., 1991) y al 8% (West y Kemper, 1976; Cintra y cols., 1990; Andrade y cols., 1996), permite analizar los cambios morfológicos que causa la disminución de proteína en el periodo pre y/o posnatal. West y Kemper (1976) observaron como los efectos de la malnutrición crónica al 8% de caseína altera el desarrollo físico, provocando reducción en la talla y en el peso corporal y cerebral del animal malnutrido crónico. Andrade y cols. (1996) encontraron que la malnutrición posnatal durante tres meses disminuye el número de células tanto granulares como piramidales en la región CA3, CA1 y GD de la FH así como del número total de sinapsis en la región del CA3.

Se ha observado en animales de 15, 30, 90 y 220 días de edad que la malnutrición prenatal provoca disminución del tamaño celular, de ramas y espinas dendríticas de las células granulares del GD en las cuatro edades (Díaz-Cintra y cols., 1991). Trabajos realizados con malnutrición proteínica prenatal en células piramidales del campo CA3 de la FH indican disminución del soma de la célula, de las dendritas basales y apicales, así como de la densidad de espinas y que estas alteraciones permanecen a largo plazo aún después de haber rehabilitado al animal posnatalmente (Díaz-Cintra y cols., 1994). Las neuronas piramidales del campo CA1 también se afectan por este factor de malnutrición prenatal reduciendo su tamaño, longitud de las dendritas y el número de espinas. El grosor

de los *strata radiatum* y *moleculare* se reduce en los animales de 30 y 220 días (Cintra y cols., 1997b).

En un estudio de malnutrición crónica realizado por Cintra y cols. (1990) donde se aplicó una dieta al 8% de caseína, se encontró en las células granulares del giro dentado disminución de las dendritas distales en ratas de 30 días, persistiendo hasta los 220 días, además de reducción del cuerpo celular.

Recientemente bajo el paradigma de una malnutrición prenatal al 6% de caseína se encontró reducción del área (Granados y cols., 1995) y volumen de las fibras musgosas de la formación hipocámpica en animales de 15, 90 y 220 días de edad (Cintra y cols., 1997a).

Con relación a la importancia de la malnutrición en niños se ha observado que en la India presentan reducción del 28% al 36% de su peso cuando la malnutrición ocurrió en los últimos tres meses de gestación o en los primeros tres meses de vida posnatal. En niños de Sudáfrica cuya dieta proteínica-calórica fue extremadamente baja produjo reducción en la estatura y en el peso en comparación con niños bien nutridos, así como disminución en la circunferencia del cráneo y de su peso cerebral (Kaplan, 1972). Estas observaciones correlacionadas a los estudios citoarquitectónicos mencionados anteriormente muestran que las etapas tempranas (períodos críticos de desarrollo) de los individuos son cruciales y repercuten en los efectos a largo plazo, como apatía mental y deficiencias psicológicas en los niños desnutridos prenatalmente (Kaplan, 1972).

DIMORFISMO SEXUAL

Desde hace años se ha demostrado que existen diferencias tanto morfológicas y fisiológicas en el cerebro de animales de distinto sexo. Estudios comparativos en ratas como en humanos han logrado comprobar dicha consideración (Murphy y cols., 1996; Diamond, 1987).

Conducta

Los machos presentan un estado de ansiedad mayor que las hembras en las pruebas de laberinto elevado en ratas juveniles (Almeida y cols., 1996).

Fisiología

Estudios realizados en humanos muestran diferencias en el metabolismo con relación a la edad y en la mujer el metabolismo talámico es significativamente alto en comparación con el hombre a los 24 años, mientras que a los 70 años el metabolismo del hipocampo comienza a disminuir significativamente en la mujer comparado con el hombre (Murphy y cols., 1996). Las mujeres presentan una habilidad de memoria verbal mejor que la de los hombres y la memoria de orientación espacial es mejor en los hombres que en las mujeres (revisado en Trenergy y cols., 1995).

Los estudios en ratas de laboratorio muestran diferencias en los niveles de hormonas entre macho y hembra, tal es el caso de la corticosterona, la cual se presenta en hembras con niveles más altos en edades adultas (Loy, 1986).

La LTP de la vía patrón perforante-células granulares presenta diferencias en la inducción de este fenómeno, siendo menor en la hembra que en el macho en ratas de 55 a 60 días de edad (Maren, 1995).

Anatomía

En un estudio de resonancia magnética y tomografía de emisión de positrones en humanos, se encontraron diferencias morfométricas entre los sexos. En mujeres se observa menor volumen de los lóbulos parietales y del hipocampo,

así como un incremento significativo del volumen del tercer ventrículo, del núcleo caudado y tálamico en comparación con el hombre (Murphy y cols., 1996).

Las comparaciones observadas en ratas adultas de laboratorio evidencian mayor peso corporal en los machos que en hembras (Madeira y Paula-Barbosa, 1993).

Ultraestructuralmente se han encontrado diferencias en distintas partes del cerebro, por ejemplo, en el núcleo hipotalámico ventromedial de ratas de 70 días de edad se encontró mayor número de sinapsis en la rata macho que en la hembra (Larriva-Sahd y cols., 1995). En un estudio de desarrollo posnatal en la pars compacta del área dimorfica sexual del hipotálamo se reportaron diferencias entre ambos géneros encontrándose mayor número de células picnóticas en las hembras en los días 3 a 6 posnatales (Holman y cols., 1996). También en este trabajo se indica que existe una menor incidencia de muerte neuronal temprana en gerbos macho en comparación con las hembras.

Las diferencias anatómicas del hipocampo entre ratas macho y hembra han mostrado que los machos tienen más engrosado el hipocampo del lado derecho, en tanto que las hembras tienen más grueso el izquierdo (Diamond, 1987). El número de células en el GD es mayor en los machos que en las hembras (Madeira y Lieberman, 1995), aunado a que las hembras presentan mayor pérdida de neuronas que los machos en edades juveniles (Wimer y cols., 1988). En cuanto a los árboles dendríticos de las células granulares, Juraska (1990) no encontró diferencias en la longitud del árbol entre sexos, tanto en animales adultos jóvenes como en animales recién destetados.

En relación a las células piramidales, los árboles dendríticos en los machos adultos presentan mayor ramificación en la dendrita apical distal que las hembras adultas y en la zona proximal de la dendrita las hembras presentan mayor ramificación que los machos (Juraska y cols., 1989). También en cultivos celulares de embriones de 17 días de edad de la FH de ratas macho y hembra se han encontrado diferencias en el número de neuronas GABAérgicas o en cestas con

mayor inmunoreactividad en los machos que en las hembras (Reisert y cols., 1996).

Madeira y cols. (1991a) realizando un estudio cuantitativo de las fibras musgosas de la FH en ratas de 180 días de edad, encontraron diferencias entre el macho y la hembra. Así, el macho tiene mayor volumen de fibras que las hembras. En cuanto a la densidad sináptica entre las fibras musgosas y las células piramidales de la región CA3, las hembras presentan mayor densidad sináptica comparada con los machos. Por otro lado, Parduez y García-Segura (1993) obtuvieron resultados diferentes en cuanto a la densidad de sinapsis de fibras musgosas en el hilio, presentando los machos mayor densidad que las hembras. Estos resultados parecen ser conflictivos, Parduez y García-Segura (1993) consideran importante los efectos de los esteroides, ya que los componentes posinápticos de los dos tipos de sinapsis (FM-células del hilio y FM-espinas de las células piramidales del CA3) presentan distinta sensibilidad a estos esteroides como también varía la distribución de los receptores hormonales en el GD comparado al campo CA3 (Pérez y cols., 1990).

Plasticidad

Juraska y cols. (1985) encontraron al estudiar los árboles dendríticos de las células granulares en ratas adultas bajo un medio ambiente enriquecido que las hembras desarrollan mayor número de dendritas que los machos y bajo un medio ambiente aislado las neuronas de los machos tienen más dendritas que las hembras.

Se han observado cambios en los árboles dendríticos y en las excrecencias torneadas de las células piramidales del campo CA3 del hipocampo cuando se someten a ambos géneros a tratamientos de la hormona tiroidea, presentando los machos mayor número de excrecencias cuando hay un aumento de la hormona tiroidea. Por el contrario la hembra presenta un aumento de las dendritas primarias de las células piramidales con el tratamiento (Gould y cols., 1990).

JUSTIFICACIÓN

La FH es una estructura que juega un papel importante en la integración de procesos cognoscitivos como el aprendizaje y la memoria además de que despliega fenómenos plásticos como la potenciación de largo plazo que hasta ahora parece ser es el mecanismo que explica la memoria. Estudios previos han mostrado que existen diferencias por género en algunos de estos fenómenos. Así, en animales normales (Roof, 1993) se ha observado que los machos son más eficientes que las hembras en pruebas de laberintos, en tanto que en estudios de animales malnutridos prenatalmente (Almeida y cols., 1996), se ha observado que los machos presentan un estado de ansiedad mayor. Por otro lado la inducción de la potenciación de largo plazo de la vía patrón perforante-células granulares es mayor en los machos que en las hembras (Maren, 1995). Se conoce además que la malnutrición hipoproteínica prenatal causa alteraciones en la potenciación de largo plazo en animales machos de 30 días de edad posnatal (Morgane y cols., 1992). Estos cambios conductuales y fisiológicos pueden deberse en parte a alteraciones en el sustrato anatómico de la FH, por lo que es importante analizar los posibles cambios morfológicos producidos en esta estructura (como en la capa granular y en el sistema de fibras musgosas) lo que aunado a los hallazgos previos ayudaran a entender mejor esta región del SNC. Además es importante conocer si la malnutrición hipoproteínica prenatal tiene efectos diferenciales anatómicos de acuerdo al género.

HIPÓTESIS

1. La malnutrición hipoproteínica prenatal en ratas jóvenes no altera el volumen de la capa granular y del sistema fibras musgosas de la formación hipocámpica.
2. El volumen de la capa granular y del sistema de fibras musgosas de ratas hembra jóvenes malnutridas prenatalmente presenta diferencias entre los géneros.

OBJETIVO GENERAL

Determinar los efectos de la malnutrición proteínica prenatal y los cambios dimórficos sexuales en el volumen que ocupan la capa granular y el sistema de fibras musgosas de la formación hipocámpica, en ratas de la cepa Sprague Dawley a los 30 días de edad posnatal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

En ambos géneros, en ratas control y malnutridas prenatalmente usando la técnica de Timm y aplicando la técnica estereológica del método de Cavalieri, cuantificar el volumen de:

- 1) El labio dorsal de la capa granular (LDCG).
- 2) El labio ventral de la capa granular (LVCG).
- 3) La capa granular total (CGT).
- 4) El haz suprapiramidal del sistema de fibras musgosas (HSSFm).
- 5) El haz infrapiramidal más parte hilar del sistema de fibras musgosas (HIHSFM).
- 6) El sistema de fibras musgosas total (SFMT).

OBJETIVO GENERAL

Determinar los efectos de la malnutrición proteínica prenatal y los cambios dimórficos sexuales en el volumen que ocupan la capa granular y el sistema de fibras musgosas de la formación hipocámpica, en ratas de la cepa Sprague Dawley a los 30 días de edad posnatal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

En ambos géneros, en ratas control y malnutridas prenatalmente usando la técnica de Timm y aplicando la técnica estereológica del método de Cavalieri, cuantificar el volumen de:

- 1) El labio dorsal de la capa granular (LDCG).
- 2) El labio ventral de la capa granular (LVCG).
- 3) La capa granular total (CGT).
- 4) El haz suprapiramidal del sistema de fibras musgosas (HSSFm).
- 5) El haz infrapiramidal más parte hilar del sistema de fibras musgosas (HIHSFM).
- 6) El sistema de fibras musgosas total (SFMT).

MATERIAL Y METODOS

ANIMALES

Se usaron un total de 15 ratas hembras y 3 machos de la cepa Sprague Dawley para efectuar las cruces proporcionadas por el bioterio del Centro de Neurobiología de la UNAM.

Las hembras para la crianza tuvieron un peso de 250 a 300 g con 80 a 90 días de edad, las cuales se mantuvieron bajo condiciones controladas de luz obscuridad (12:12 hrs), temperatura (22- 24 °C), humedad (40-50%) y con libre acceso a las respectivas dietas y al agua.

TRATAMIENTO NUTRICIONAL

Cinco hembras fueron alimentadas con una dieta al 6% de caseína (futuras madres malnutridas) y 10 hembras con una dieta al 25% de caseína futuras madres controles y nodrizas, durante cinco semanas antes del apareamiento. Ver tabla de composición nutricional de las dietas (tabla 1).

REPRODUCCIÓN

Después de este período de malnutrición, se introdujo 1 macho en cada caja familiar conteniendo 3 hembras. Para determinar el día de apareamiento, se efectuaron frotis vaginales cada mañana, con el propósito de detectar la existencia de espermatozoides. Las hembras que presentaron frotis positivos, fueron separadas en cajas de plástico de acuerdo a la dieta correspondiente. Las ratas preñadas se mantuvieron con la misma dieta nutricional durante el período de gestación. Al momento del parto, las camadas nacidas en el mismo día y de la misma dieta nutricional fueron pesadas, sexadas y mezcladas entre sí. Las crías descendientes de madres malnutridas se asignaron a madres nodrizas, las cuales se alimentaron con una dieta al 25% de caseína durante la etapa prenatal y durante la gestación formando de esta manera el grupo malnutrido prenatalmente (6/25). A cada madre nodriza se les asignaron 4 hembras y 4 machos. El resto de las crías y las madres malnutridas se canalizaron a otros protocolos de

investigación, de tal forma que se obtuvieron finalmente 5 hembras nodrizas bien nutridas con 8 crías malnutridas y 5 hembras control con 8 crías bien nutridas (figura 5). A los 21 días de edad, los animales se destetaron y se colocaron 3 animales en cada caja los cuales fueron separados por sexos y por condición nutricional. Se tomó el peso corporal de los críos a los 30 días de edad. Para estudios histológicos del cerebro, se seleccionaron al azar críos hembra y críos macho de cada camada tanto del grupo control como del experimental.

Tabla 1. Composición nutricional de las dietas (g/k)

COMPONENTES	DIETAS	
	25% de caseína	6% de caseína
Caseína	250.00	60.00
L-Metionina	3.70	3.70
Sacarosa	381.72	511.74
Grasas	150.00	151.80
Carbohidratos	50.90	67.16
Sales minerales	35.00	35.00
Fosfato de calcio, dibásico (CaHPO ₄)	-	6.02
Carbonato de calcio (CaCO ₃)	5.06	0.73
Vitaminas	10.00	10.00
Agua	02.20	01.20
Color de alimento	-	0.33
Kcal/g	04.30	04.30

FORMACIÓN DE GRUPOS

Cinco animales hembras fueron utilizadas en cada condición experimental (grupo control y malnutrido prenatalmente) y por sexo (machos y hembras), obteniendo un total de cuatro grupos:

- a) machos controles
- b) machos malnutridos prenatalmente

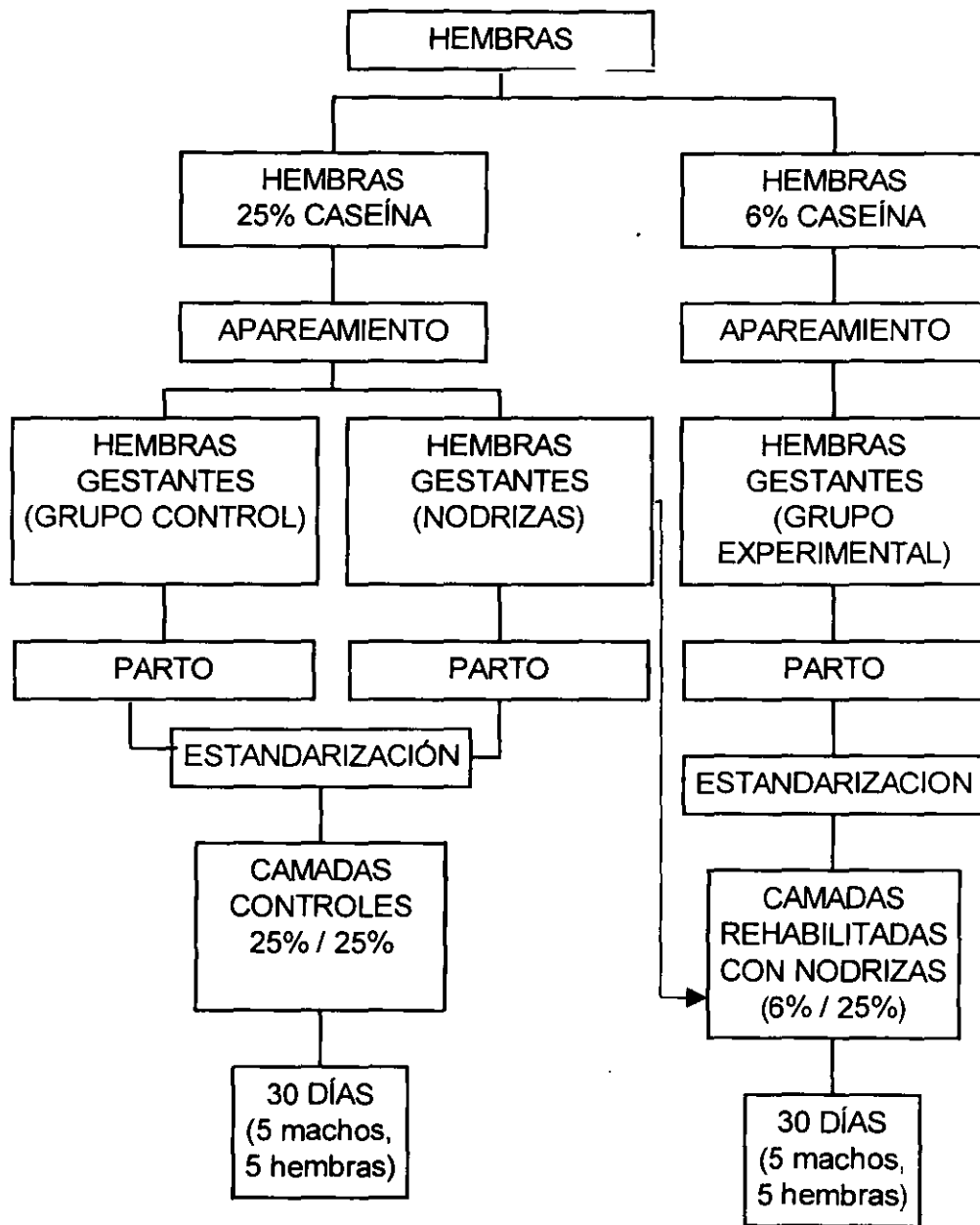


Figura 5. Modelo de malnutrición hipoproteínica prenatal en la rata.

- c) hembras controles
- d) hembras malnutridas prenatalmente

PROCEDIMIENTO HISTOLÓGICO

Cumplida la edad requerida los animales se escogieron al azar de las distintas camadas y se procesaron con la técnica de Timm.

Perfusión

Los animales se anestesiaron con pentobarbital sódico. La perfusión se llevó a cabo por vía intracardiaca iniciándose con una solución de sulfuro de sodio (11.7g de Na₂S y 11.9g de NaH₂PO₄. H₂O disueltos en 1 litro de agua destilada, pH 7.4), hasta que la dentina se observara oscura. Posteriormente se introdujeron de 100 a 200 ml de fijador formado por glutaraldehido y buffer de fosfatos 0.15M y pH 7.4, hasta que los ojos, nariz, lengua y orejas se tornaron blancos. Enseguida se extrajo el encéfalo y este se colocó en frascos conteniendo una solución de glutaraldehido (1.25%) y paraformaldehido (1.0%) al 30% de sacarosa, manteniéndose en el refrigerador durante 72 horas o hasta que el tejido se sumergiera en el fondo del frasco.

Tinción

Posteriormente se procedió a cortar los bloques de tejido que contenían la formación hipocámpica al microtomo de congelación siguiendo una estricta seriación en un plano coronal de 40 micras y se revelaron con la técnica de Timm, en la cual se utiliza un revelador que contiene goma arábica, buffer de citratos, hidroquinona y nitrato de plata.

ESTEREOLOGIA

El estudio cuantitativo se realizó en forma ciega sin que el observador conociera el tratamiento o el género del animal.

Las mediciones se llevaron a cabo usando un microscopio fotónico con un objetivo de 6.3x planapocromático, con una cámara lúcida se realizaron dibujos de 10 cortes seleccionados sistemáticamente al azar (Gundersen y Jensen, 1987) a lo largo de la formación hipocámpica (figura 6), se eligió el primer corte entre el primero y el décimo corte de forma azarosa y después cada 400 micras los cortes siguientes. La cuantificación del volumen se llevó a cabo aplicando el método estereológico de Cavalieri (Michel y Cruz-Orive, 1988; Geinisman y cols., 1996) método que consiste en colocar sobre la región analizada un acetato con puntos de área conocida y contar el número de puntos que caían dentro de esta región. El volumen total se obtuvo multiplicando el número de puntos por el área de cada uno de ellos y el grosor del corte.

Las regiones que se midieron fueron las siguientes (figura 4):

Capa Granular

- a) Labio dorsal de la capa granular (*LDCG*)
- b) Labio ventral de la capa granular (*LVCG*)
- c) Capa granular total (*CGT*)

Sistema de fibras musgosas (*SFM*)

- d) Haz suprapiramidal del SFM (*HSSF*)
- e) Haz infrapiramidal más región hiliar del SFM (*HIHSFM*)
- f) Sistema de fibras musgosas total (*SFMT*)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO E INTERPRETACIÓN DE LOS DATOS

El análisis estadístico del volumen de las regiones analizadas se llevó a cabo usando el paquete estadístico para las ciencias sociales versión 3.0, SPSS (Statistical Package for Social Studies).

Se aplicó primeramente el análisis de varianza de dos vías (ANOVA Two-way) tomando el estado nutricional y el género del animal como los dos factores a valorar, esto con el fin de ver si existe alguna diferencia significativa por los factores del género y dieta o por la interacción de ambos factores en general.

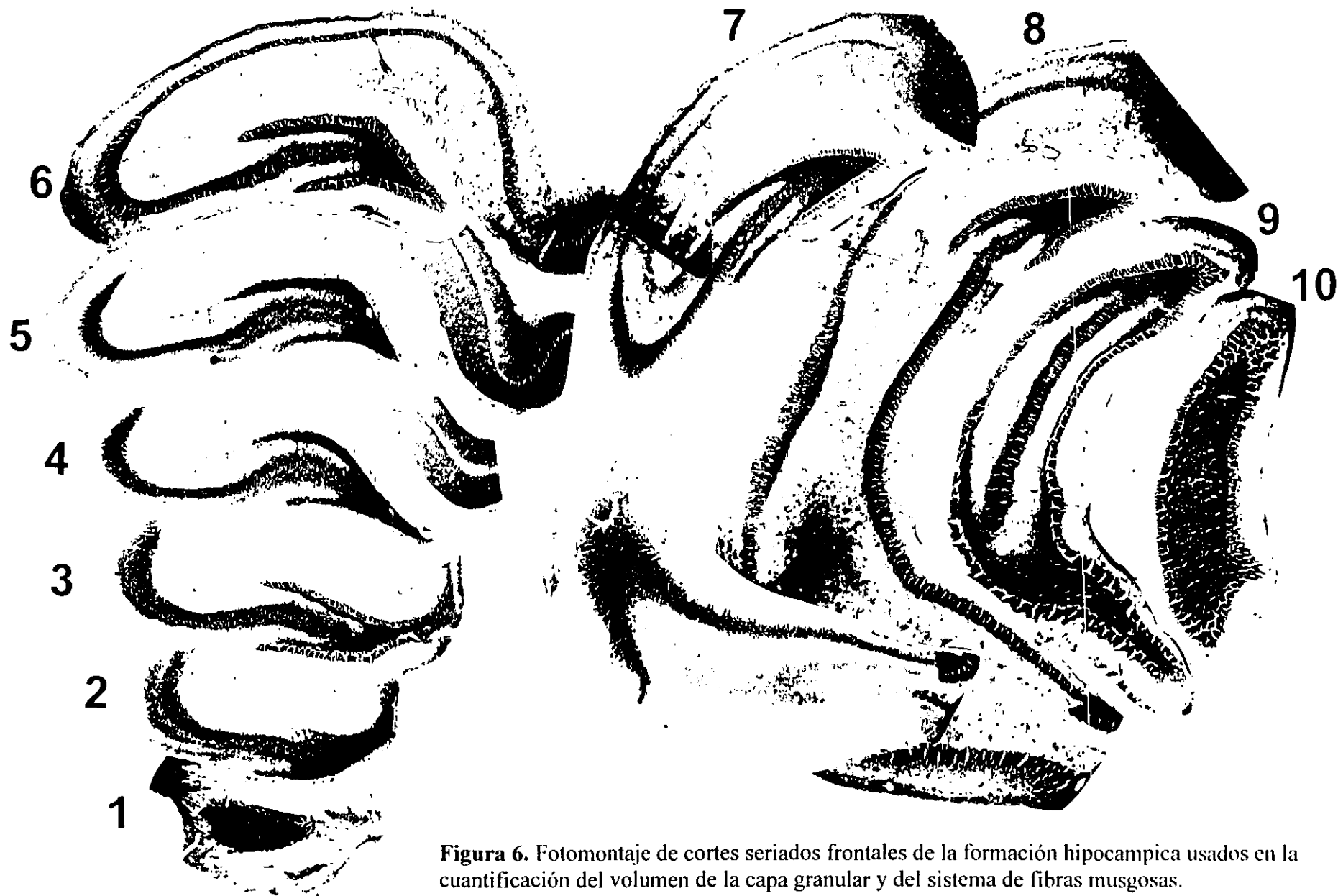


Figura 6. Fotomontaje de cortes seriados frontales de la formación hipocámpica usados en la cuantificación del volumen de la capa granular y del sistema de fibras musgosas.

La prueba de análisis de varianza de una vía se usó seguida de la prueba de Tukey (ANOVA One-way/Tukey) con niveles estadísticos de significancia que se establecieron a un valor de $p < 0.05$. Esta prueba nos indicó las diferencias que existen entre los dos grupos experimentales en específico y se aplicó solo cuando la primera prueba mostró alguna diferencia estadísticamente significativa por algún factor. Las comparaciones se realizaron por condición nutricional y por género.

RESULTADOS

PESO CORPORAL Y CEREBRAL

No existen diferencias significativas en el peso corporal y cerebral en ratas hembra y macho malnutridos prenatalmente al compararlos con sus respectivos grupos control (tabla 2).

Los resultados de la tabla 3 indican que los pesos corporal y cerebral entre la ratas machos control con respecto a la ratas hembras control no presentan diferencias, al igual que entre las ratas machos malnutridos prenatalmente comparado con las ratas hembras malnutridas prenatalmente.

Tabla 2. Peso (gr) corporal y cerebral de ratas macho y hembra, control y malnutridos prenatalmente de 30 días de edad posnatal. Comparación por condición nutricional.

	Control	Experimental	%DE CAMBIO	p
Peso corporal				
Macho	125.9 ± 9.6	125.1 ± 0.6	-0.6	NS
Hembra	108.1 ± 7.3	107.5 ± 2.8	-0.5	NS
Peso cerebral				
Macho	1.4 ± 0.0	1.3 ± 0.1	-7.1	NS
Hembra	1.3 ± 0.05	1.2 ± 0.08	-7.6	NS

Prueba estadística: ANOVA de una vía. NS= no significativo.

Tabla 3. Peso (gr) corporal y cerebral de ratas macho y hembras, control y malnutridos prenatalmente de 30 días. Comparación por género.

	MACHO	HEMBRA	%DE CAMBIO	p
Peso corporal				
Control	125.9 ± 9.6	108.1 ± 7.3	-14.1	NS
Experimental	125.1 ± 0.6	107.5 ± 2.8	-14.0	NS
Peso cerebral				
Control	1.4 ± 0.0	1.3 ± 0.05	-7.14	NS
Experimental	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.08	-7.16	NS

Prueba estadística ANOVA de una vía. NS= no significativo.

CAPA GRANULAR

La tabla 4 muestra los resultados de las tres regiones de la capa granular después de aplicar la prueba estadística ANOVA de dos vías. En esta tabla se observan los cambios entre grupos debido a los factores dieta (control y malnutrido prenatalmente) y género (hembras y machos) así como a la interacción de ambos factores.

Los cambios por la dieta y género fueron significativos en las tres zonas de la capa granular analizadas: labios dorsal y ventral y total de la capa granular. Los cambios por la interacción de ambos factores fueron significativos en el labio ventral de la capa granular y en la capa granular total.

Tabla 4. Análisis de varianza de dos vías del volumen de la capa granular del giro dentado.

	VALOR DE F		
	DIETA (gl 1,16)	GÉNERO (gl 1,16)	INTERACCION (gl 1,16)
LDCG	7.55 *	20.00 ***	2.31 NS
LVCG	7.55 *	22.30 ***	10.26 **
CGT	10.30 **	28.87 ***	6.02 *

LDCG= Labio dorsal de la capa granular. LVCG= Labio ventral de la capa granular. CGT= Capa granular total. gl= grados de libertad. NS= no significativo. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$

DIFERENCIAS POR CONDICIÓN NUTRICIONAL

Machos

De acuerdo a la figura 7, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el volumen del labio dorsal y ventral ni en la capa granular total de los grupos de machos malnutridos prenatalmente cuando se compararon con sus respectivos grupos control.

Hembras

La prueba estadística ANOVA de una vía/Tukey muestra reducción significativa del volumen del labio dorsal (-22.40%) del labio ventral (-24.86%) y total de la capa granular (-23.29%) de hembras malnutridas prenatalmente respecto de sus controles (figura 8).

DIFERENCIAS POR GÉNERO

Grupos controles

El análisis de los datos no indica diferencias estadísticamente significativas en el volumen de ninguna de las tres regiones de la capa granular analizadas entre machos y hembras controles (figura 9).

Grupos malnutridos prenatalmente

La figura 10 indica que el volumen de las hembras malnutridas prenatalmente es significativamente menor con respecto de los machos malnutridos prenatalmente en las tres regiones analizadas: labio dorsal (-28.12%), labio ventral (-28.78%) y capa granular total (-28.70%).

VOLUMEN DE LAS TRES REGIONES DE LA CAPA GRANULAR

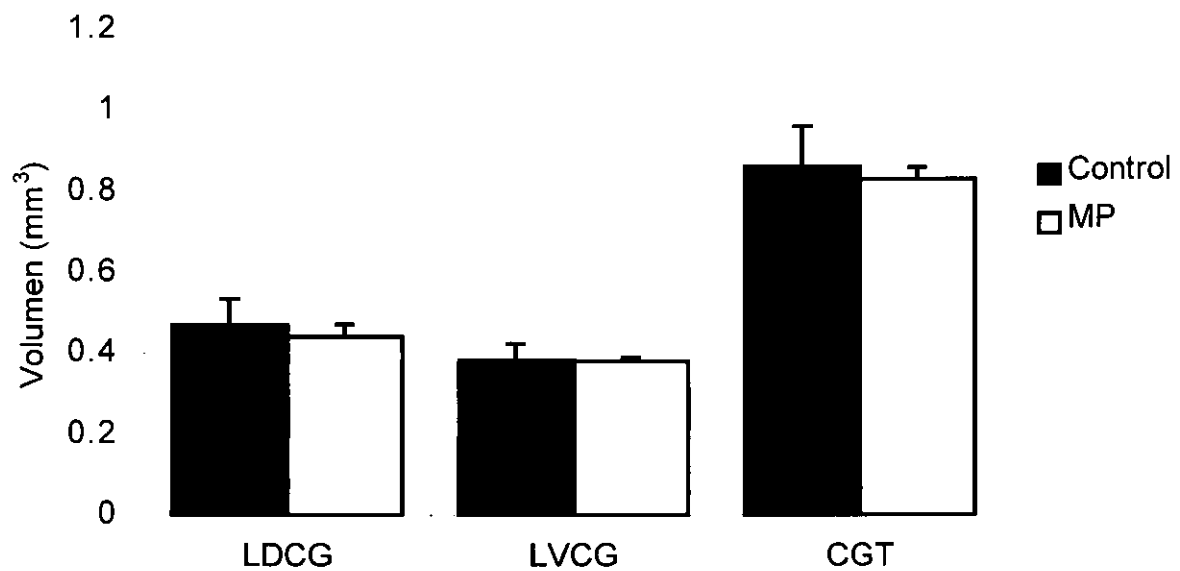


Figura 7. Volumen de las tres regiones analizadas de la capa granular en ratas macho control y malnutridas prenatalmente (MP) de 30 días. Comparación por condición nutricional. LDCG= labio dorsal de la capa granular, LVCG= labio ventral de la capa granular y CGT= capa granular total.

VOLUMEN DE LAS TRES REGIONES DE LA CAPA GRANULAR

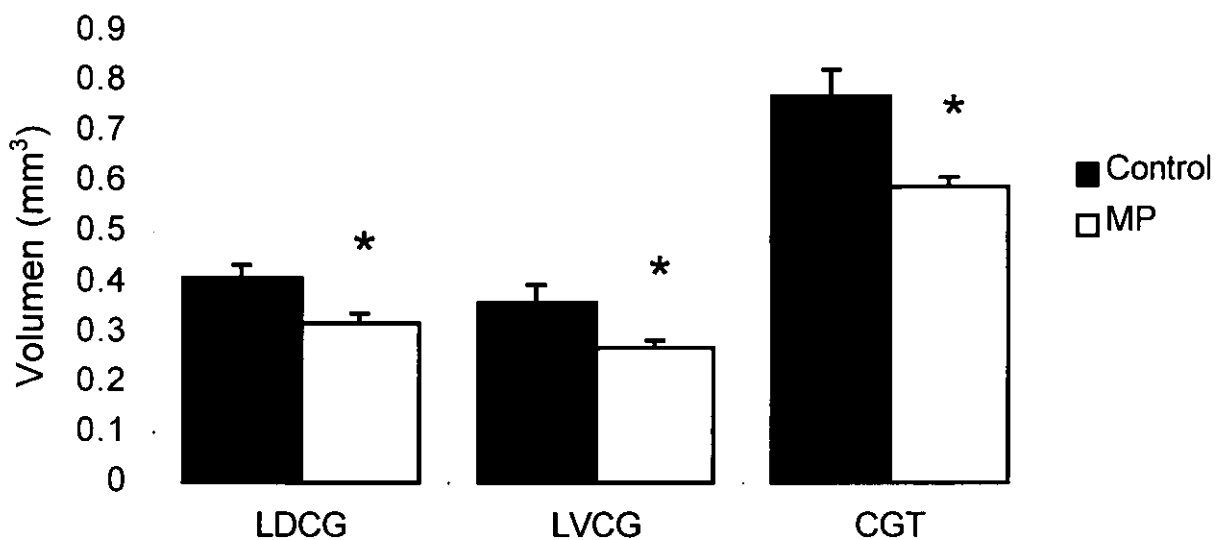


Figura 8. Volumen de las tres regiones analizadas de la capa granular en ratas hembras control y malnutridas prenatalmente (MP) de 30 días. Comparación por condición nutricional. LDCG= labio dorsal de la capa granular, LVCG= labio ventral de la capa granular y CGT= capa granular total. * $p < 0.05$.

VOLUMEN DE LAS TRES REGIONES DE LA CAPA GRANULAR

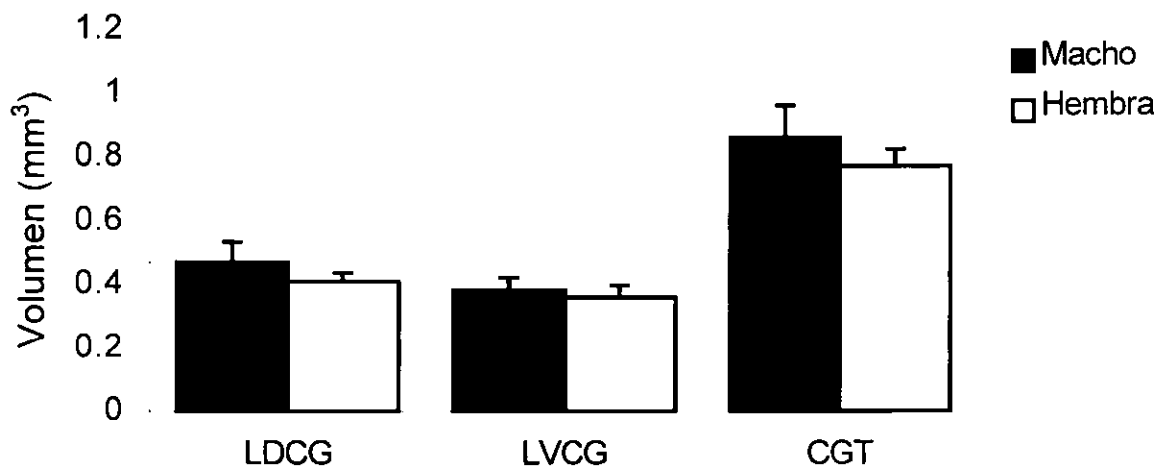


Figura 9. Volumen de las tres regiones analizadas de la capa granular en ratas macho y hembra control de 30 días. Comparación por género. LDCG= labio dorsal de la capa granular, LVCG= labio ventral de la capa granular y CGT= capa granular total.

VOLUMEN DE LAS TRES REGIONES DE LA CAPA GRANULAR

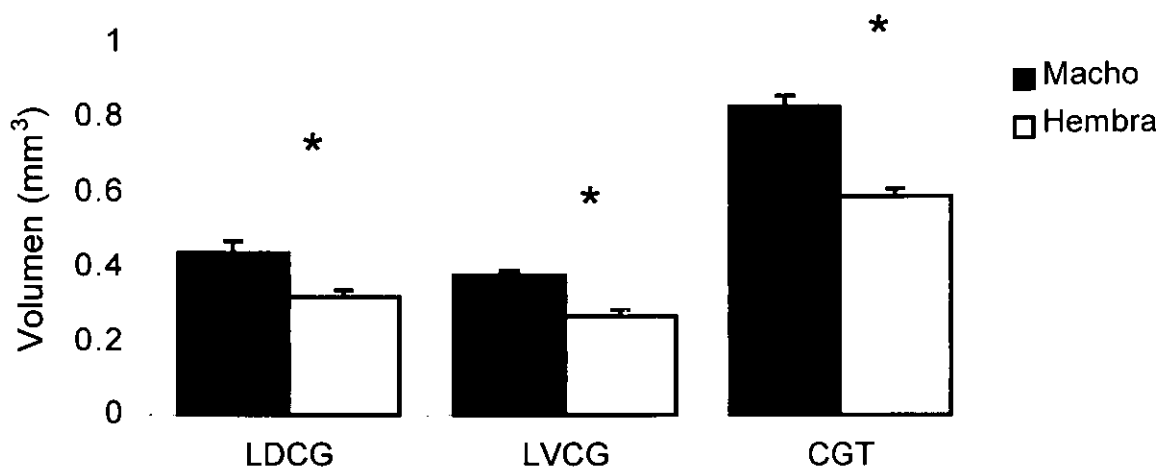


Figura 10. Volumen de las tres regiones analizadas de la capa granular en ratas macho y hembra malnutridas prenatalmente (MP) de 30 días. Comparación por género. LDCG= labio dorsal de la capa granular, LVCG= labio ventral de la capa granular y CGT= capa granular total. * $p < 0.05$.

SISTEMA DE FIBRAS MUSGOSAS

La tabla 5 muestra los resultados de las tres regiones del sistema de fibras musgosas después de aplicar la prueba estadística ANOVA de dos vías.

Los cambios por la dieta fueron significativas tanto en el haz infrapiramidal más región hiliar del sistema de fibras musgosas como el sistema de fibras musgosas total. Las diferencias por género fueron significativas en las tres regiones analizadas. La interacción entre ambos factores fue estadísticamente significativa únicamente en el haz infrapiramidal más región hiliar del sistema de fibras musgosas.

Tabla 5. Análisis de varianza de dos vías del volumen del sistema de fibras musgosas.

	VALOR DE F		
	DIETA (gl 1,16)	GÉNERO (gl 1,16)	INTERACCION (gl 1,16)
HSSFMT	1.07 NS	13.71 **	0.11 NS
HIHSFM	26.45 ***	30.56 ***	4.64 *
SFMT	16.69 ***	47.94 ***	1.56 NS

HSSFMT= Haz suprapiramidal del sistema de fibras musgosas. HIHSFM= Haz infrapiramidal más región hiliar del sistema de fibras musgosas. SFMT= Sistema de fibras musgosas total. gl= grados de libertad. NS= no significativo. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$.

DIFERENCIAS POR CONDICIÓN NUTRICIONAL

Machos

El volumen de las tres regiones analizadas del sistema de fibras musgosas no fue diferente entre los grupos malnutridos prenatalmente al compararse con sus respectivos grupos controles (figura 11).

Hembras

La prueba estadística ANOVA de una vía/Tukey muestra reducción significativa del volumen del haz infrapiramidal más región hiliar del sistema de fibras musgosas (-28.78%) y del sistema de fibras musgosas total (-21.21%) en los animales malnutridos prenatalmente comparado con los animales controles (figura 12).

DIFERENCIAS POR GÉNERO

Grupos controles

De acuerdo a los resultados en la figura 13 existe reducción del volumen del haz suprapiramidal (-26.86) y del total del sistema de fibras musgosas (-17.91%) en hembras control con respecto a machos controles.

Grupos malnutridos prenatalmente

El volumen del haz suprapiramidal, infrapiramidal más región hiliar y del sistema de fibras musgosas total se redujo significativamente en los grupos de hembras malnutridas prenatalmente respecto de los machos malnutridos prenatalmente (figura 14).

VOLUMEN DE LAS TRES REGIONES DEL SISTEMA DE FIBRAS MUSGOSAS

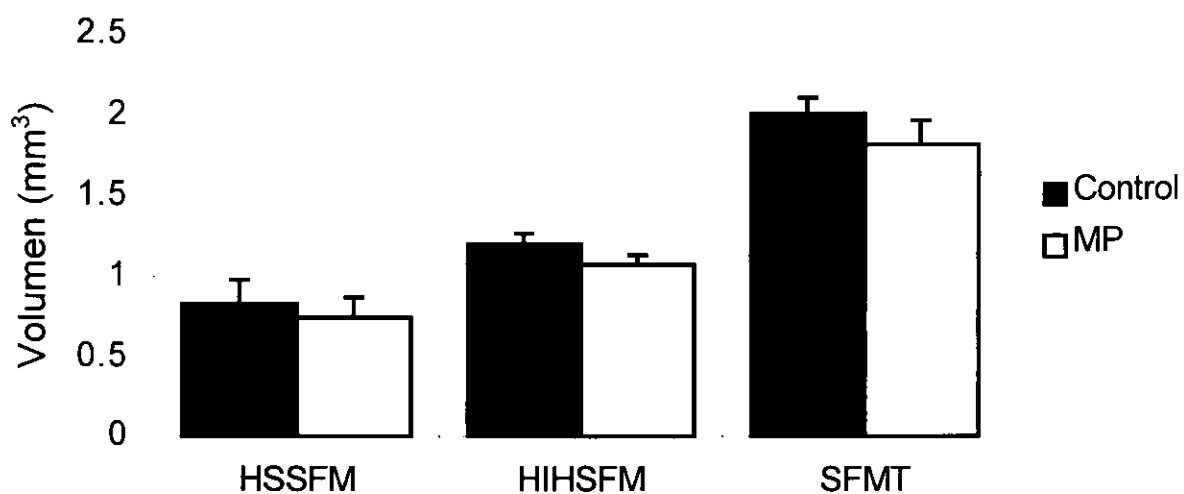


Figura 11. Volumen de las tres regiones analizadas del sistema de fibras musgosas en ratas macho control y malnutridos prenatalmente (MP) de 30 días. Comparación por condición nutricional. HSSFm= haz suprapiramidal del sistema de fibras musgosas, HIHSFM= haz infrapiramidal más región hiliar del sistema de fibras musgosas y SFMT= el sistema de fibras musgosas total.

VOLUMEN DE LAS TRES REGIONES DEL SISTEMA DE FIBRAS MUSGOSAS

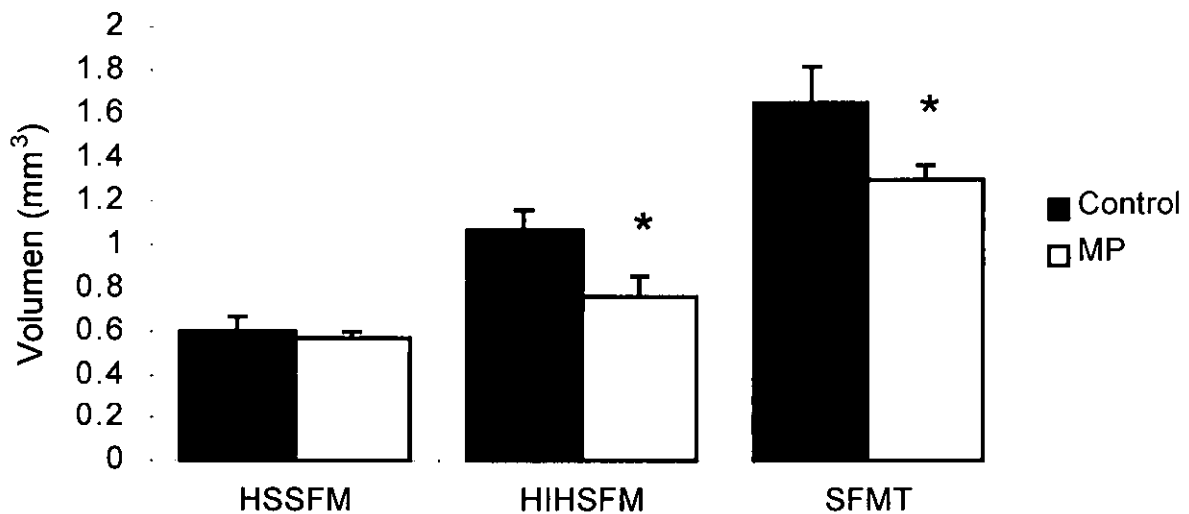


Figura 12. Volumen de las tres regiones analizadas del sistema de fibras musgosas en ratas hembra control y malnutridas prenatalmente (MP) de 30 días. Comparación por condición nutricional. HSSFm= haz suprapiramidal del sistema de fibras musgosas, HIHSFM= haz infrapiramidal más región hiliar del sistema de fibras musgosas y SFMT= sistema de fibras musgosas total. * $p < 0.05$.

VOLUMEN DE LAS TRES REGIONES DEL SISTEMA DE FIBRAS MUSGOSAS

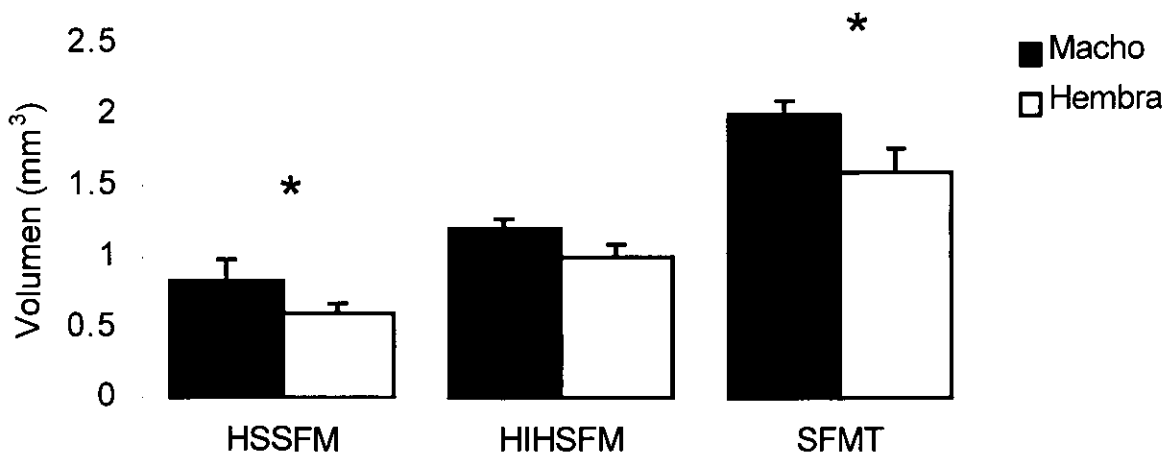


Figura 13. Volumen de las tres regiones analizadas del sistema de fibras musgosas en ratas macho y hembra control de 30 días. Comparación por género. HSSFMS= haz suprapiramidal del sistema de fibras musgosas, HIHSFM= haz infrapiramidal más región hiliar del sistema de fibras musgosas y SFMT= sistema de fibras musgosas total. * $p < 0.05$.

VOLUMEN DE LAS TRES REGIONES DEL SISTEMA DE FIBRAS MUSGOSAS

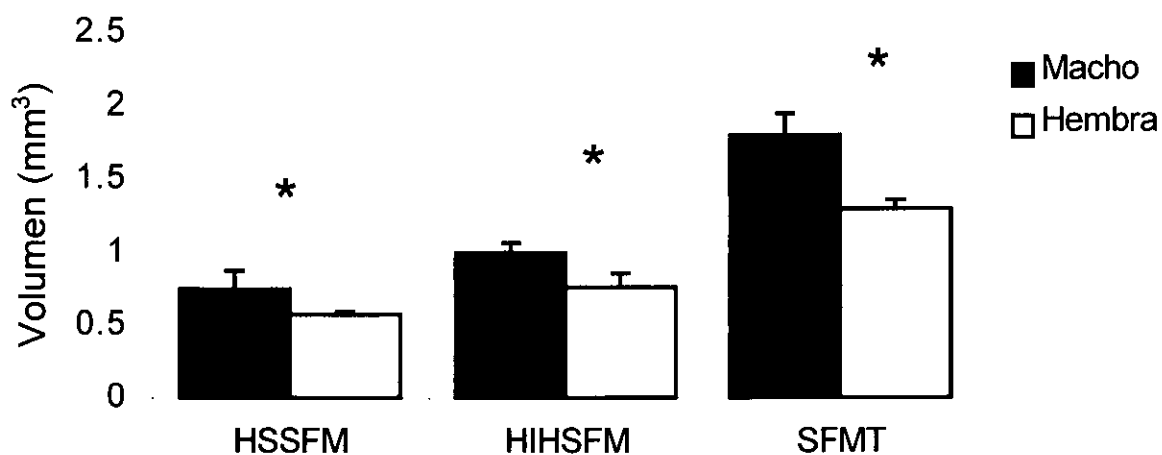


Figura 14. Volumen de las tres regiones analizadas del sistema de fibras musgosas en ratas macho y hembra malnutridos prenatalmente (MP) de 30 días. Comparación por género. HSSFMT= haz suprapiramidal del sistema de fibras musgosas, HIHSFM = haz infrapiramidal más región hiliar del sistema de fibras musgosas y SFMT= sistema de fibras musgosas total. * $p < 0.05$.

Tabla 6. Resumen de los resultados obtenidos del volumen de las diferentes regiones analizadas

REGIONES	MACHO CONTROL vs MACHO MALNUTRIDO PRENATALMENTE	HEMBRA CONTROL vs HEMBRA MALNUTRIDA PRENATALMENTE	MACHO CONTROL vs HEMBRA CONTROL	MACHO MALNUTRIDO PRENATALMENTE vs HEMBRA MALNUTRIDA PRENATALMENTE
CAPA GRANULAR DORSAL F= 10.45 * 0.0006	(0.047 ± 0.064) (0.44 ± 0.031) NS -5.88%	(0.41 ± 0.026) (0.32 ± 0.019) * -22.40%	(0.47 ± 0.064) (0.41 ± 0.026) NS -12.81%	(0.44 ± 0.031) (0.32 ± 0.019) * -28.12%
CAPA GRANULAR VENTRAL F= 13.88 * 0.0001	(0.382 ± 0.041) (0.38 ± 0.010) NS -0.52%	(0.36 ± 0.036) (0.27 ± 0.016) * -24.86%	(0.382 ± 0.041) (0.36 ± 0.036) NS -4.73%	(0.38 ± 0.010) (0.27 ± 0.016) * -28.78%
CAPA GRANULAR TOTAL F= 15.75 * 0.0001	(0.86 ± 0.101) (0.83 ± 0.023) NS -3.24%	(0.77 ± 0.054) (0.59 ± 0.019) * -23.29%	(0.86 ± 0.101) (0.77 ± 0.054) NS -10.06%	(0.83 ± 0.029) (0.59 ± 0.019) * -28.70%
HAZ SUPRAPIRAMIDAL F= 5.12 * 0.0123	(0.83 ± 0.15) (0.75 ± 0.12) NS -8.91%	(0.60 ± 0.069) (0.76 ± 0.095) NS -6.09%	(0.83 ± 0.150) (0.60 ± 0.069) * -26.86%	(0.75 ± 0.124) (0.57 ± 0.027) * -24.60
HAZ INFRAPIRAMIDAL MÁS REGIÓN HILIAR F= 21.67 * 0.0000	(1.2 ± 0.069) (1.0 ± 0.065) NS -10.83%	(1.0 ± 0.090) (0.76 ± 0.095) * -28.78%	(1.2 ± 0.069) (1.0 ± 0.090) NS -10.8%	(1.0 ± 0.065) (0.76 ± 0.095) * -28.78%
SISTEMA DE FIBRAS MUSGOSAS TOTAL F= 23.186 * 0.0000	(2.0 ± 0.099) (1.8 ± 0.15) NS -9.45%	(1.6 ± 0.165) (1.3 ± 0.063) * -21.21%	(2.0 ± 0.099) (1.6 ± 0.165) * -17.91%	(1.8 ± 0.152) (1.3 ± 0.063) * -28.57%

DISCUSIÓN

CAPA GRANULAR

- 1) Las comparaciones realizadas por condición nutricional, no indicaron cambios en el volumen de ninguna de las tres regiones analizadas de la capa granular entre el grupo de ratas macho malnutridas prenatalmente respecto del grupo de ratas macho control a los 30 días.
- 2) El volumen de las tres regiones analizadas de la capa granular de ratas hembras malnutridas prenatalmente, se redujo significativamente al compararlas con ratas hembras control.
- 3) Las comparaciones realizadas por género, no indicaron cambios en el volumen de ninguna de las tres regiones analizadas de la capa granular entre ratas macho y hembra controles.
- 4) El volumen de las tres regiones analizadas de la capa granular disminuyó significativamente en el grupo de ratas hembra malnutridas respecto del grupo de ratas macho malnutridas prenatalmente.

Estos resultados indican una respuesta diferencial dependiente del género ante la malnutrición prenatal, ya que de acuerdo a éstos, las ratas hembras son más vulnerables a este factor.

Al igual que en el presente trabajo Cintra y cols. (1992) no encontraron diferencias en la capa granular de ratas macho malnutridas prenatalmente y sacrificadas a los 30 días, si bien en dicho trabajo solo se cuantificó el área de varios niveles de la capa granular a lo largo del eje septo-temporal, el presente trabajo confirma que el volumen total de esta capa no se reduce. Por otro lado, no existe ningún trabajo donde se analice este parámetro en ratas hembras malnutridas prenatalmente.

El volumen de la capa granular no presentó cambios por género en ratas controles en las tres regiones analizadas. Trabajos estereológicos llevados a cabo por Madeira y cols. (1988) corroboran esta idea, reportando que el volumen de la capa granular no difiere entre los géneros ya sea en ratas jóvenes (Madeira y cols., 1988) ó en ratas adultas (Madeira y cols., 1991b). No obstante Roof (1993)

reportó que el ancho y grueso de la capa granular es mayor en la rata macho en comparación con la hembra, sin embargo es importante mencionar que este estudio no utiliza métodos estereológicos. Por otro lado, no existen reportes relacionados donde se analice el volumen de la capa granular en ratas hembras y machos malnutridos jóvenes, pero los presentes resultados indican que en ratas malnutridas prenatalmente existe una respuesta dimorfica sexual en donde el volumen de la capa granular es menor en hembras malnutridas prenatalmente respecto del macho malnutrido prenatalmente. Por lo que las ratas hembras jóvenes son más vulnerables a la malnutrición prenatal.

Las reducciones observadas en el volumen de la capa granular en hembras pueden deberse a tres causas: 1) reducción en el número de células de la capa granular, este razonamiento es apoyado por diversos trabajos, como el de Lewis y cols. (1979) quienes encontraron que en animales malnutridos se prolonga la fase G₂ del ciclo celular con diferencia de 140 hrs comparados con el grupo control (450 hrs malnutridos y 310 hrs controles), y como consecuencia un alargamiento de la síntesis del DNA así como del ciclo celular, de tal manera que se afecta la adquisición de estas células en un 25%, en animales malnutridos. También Fish y Winick (1969) encontraron disminución de la síntesis del DNA en animales malnutridos prenatalmente en el hipocampo a partir del día 14 posnatal.

2) Disminución del tamaño de las células granulares. Varios trabajos han mostrado que la malnutrición prenatal reduce el tamaño de las células granulares. Así, Díaz-Cintra y cols. (1991) encontraron reducción del eje mayor y menor del soma de estas células bajo malnutrición prenatal a los 15, 30, 90 y 220 días de edad posnatal.

3) Mayor muerte celular en ratas hembras malnutridas. De acuerdo a MacLusky y Naftolin (1981) y Nordeen y cols. (1985) las diferencias entre machos y hembras en el desarrollo de la muerte celular es el mecanismo que delinea el dimorfismo sexual en el SNC, este mecanismo está ligado a las diferencias de testosterona. Se sabe que las células granulares pueden ser influenciadas por los esteroides gonadales durante el desarrollo (Loy, 1986). Nordeen y cols., (1985)

analizaron el núcleo espinal bulbocavernoso (NEB) y observaron que el macho adulto contiene más motoneuronas que las hembras, debido principalmente a que la pérdida de motoneuronas es mayor en hembras que en machos durante el período posnatal temprano. Esta diferencia es establecida por la presencia de andrógenos durante este período. El tratamiento con andrógenos en hembras atenúa la muerte celular en esta región reduciendo la pérdida de motoneuronas a niveles típicos del macho. Estos resultados sugieren que las hormonas esteroidales determinan las diferencias del número de neuronas entre géneros. Estudios realizados sugieren que en la génesis de las células granulares se da una etapa de muerte celular alrededor de los días P20 a P27 en ambos géneros, presentando la hembra mayor disminución, por tal motivo Wimer y cols. (1988) sugirieron que niveles altos de testosterona en machos durante el período perinatal conlleva a diferencias numéricas en las células granulares al reducir la tasa de muerte celular en esta población de neuronas en el ratón macho.

Se ha observado que los glucocorticoides tienen un efecto tóxico sobre las células del hipocampo (Sapolsky, 1986). Por otro lado, se ha considerado a la malnutrición como un factor de estrés (Morgane y cols., 1993), el cual durante el período prenatal modifica el eje hipotálamo-hipófisis-adrenales probablemente alterando la secreción de glucocorticoides, hormonas que median la adaptación al estrés (revisado en Sapolsky, 1986). Se ha demostrado que la alteración en la cantidad de glucocorticoides (exceso o ausencia) en el hipocampo conlleva a degeneración celular (Dokas, 1990), por lo que la probable alteración de glucocorticoides debido a la malnutrición prenatal produzca pérdida de las células granulares.

SISTEMA DE FIBRAS MUSGOSAS

- 1) La malnutrición prenatal no altera el volumen de ninguna de las tres regiones analizadas del sistema de fibras musgosas en las ratas macho.
- 2) En ratas hembras la malnutrición prenatal reduce el volumen de la región correspondiente al haz infrapiramidal más la región hiliar así como el volumen total del sistema de fibras musgosas.
- 3) Se reduce el volumen del haz suprapiramidal y el volumen total del sistema de fibras musgosas de ratas hembras control en comparación con ratas macho control.
- 4) En las ratas hembras malnutridas prenatalmente se reducen las tres regiones analizadas del sistema de fibras musgosas con respecto de ratas macho malnutridas prenatalmente.

Los resultados obtenidos con relación al volumen del sistema de fibras musgosas concuerdan con trabajos reportados recientemente. Éstos indican que el área (Granados y cols., 1995) y volumen (Cintra y cols., 1997a) del sistema de fibras musgosas no se altera en machos de 30 días sometidos a malnutrición prenatal con una dieta al 6% de caseína. Sin embargo, en hembras malnutridas este parámetro se reduce notablemente, no existiendo evidencia bibliográfica que apoye este resultado.

El volumen del sistema de fibras musgosas en animales jóvenes control es diferente entre géneros, siendo mayor en ratas macho en comparación con ratas hembras. Estos resultados son apoyados por varios trabajos en los que se indica que el volumen del haz suprapiramidal de hembras control es significativamente menor respecto de los machos control a los 30 días de edad (Madeira y Paula-Barbosa, 1993) este resultado se conserva en ratas adultas de 180 días (Madeira y cols., 1991a). Datos semejantes se observan en ratas jóvenes hipotiroideas (Madeira y cols., 1992) en este caso las hembras hipotiroideas presentan reducción del volumen del haz suprapiramidal respecto a los machos control.

Las reducciones encontradas en las regiones analizadas del sistema de fibras musgosas en las ratas hembra pudieran deberse a:

1) Reducción del volumen de la capa granular ya que con anterioridad se indicó que este parámetro se reduce en hembras malnutridas prenatalmente al compararse con hembras control.

2) Reducción del número de células granulares. Esta idea se apoya por el trabajo de Gaarskjaer (1978) quien demostró que el área de los campos terminales de las fibras musgosas es dependiente de las células granulares, por lo que la pérdida de las neuronas granulares conlleva a la disminución de fibras musgosas. Un estudio más que apoya este hecho es el de Gaiarsa y cols. (1992) en este trabajo se irradiaron las células granulares, y se observó disminución del plexo de fibras musgosas; sugiriendo que éste es directamente proporcional al número de células granulares. Esto nos lleva a inferir que las diferencias entre géneros observado en el volumen de las fibras musgosas puede ser dependiente de un menor número de células granulares en hembras.

3) La reducción del número de fibras musgosas individuales; podría ser la causa de la disminución del volumen de este sistema de fibras, al igual que el grosor de cada fibra.

Los resultados del sistema de fibras musgosas indican un efecto por la malnutrición y por el género. Dado que las fibras musgosas representan la parte presináptica de la segunda sinapsis del circuito trisináptico, sería interesante analizar los efectos de la malnutrición prenatal sobre este contacto sináptico. Los trabajos realizados en las células piramidales del CA3 no han indicado características dimórficas sexuales en el volumen de la capa piramidal del CA3 ni en el volumen nuclear de esta capa (Madeira y cols., 1992). Sin embargo, el volumen y complejidad morfológica de las excrescencias dendríticas (parte posináptica de la segunda sinapsis) fueron menores en ratas hembras control en comparación con los machos control de 30 días. Esto puede ser explicado en base al hecho del que las fibras musgosas desarrollan un papel inductivo sobre las excrescencias torneadas de las células piramidales del CA3 (Amaral y Dent, 1981).

Los resultados indican que al menos en la FH las ratas hembras son más susceptibles a la malnutrición prenatal que las ratas macho, esto refleja una respuesta diferencial a la malnutrición prenatal en relación al género. Diversos trabajos han indicado que las ratas macho están más influenciadas por su medioambiente, como se ha observado en paradigmas de manipulación temprana (Galler y Manes, 1980, Jones y Friedman, 1982) y de aislamiento en primates (Sackett, 1974). También durante el desarrollo humano los hombres muestran una mayor incidencia de autismo, dislexia, epilepsia e hiperactividad. Estos resultados han llevado a la opinión que los machos son el sexo más vulnerable durante su desarrollo. Sin embargo, una serie de estudios apoyan lo contrario, esto es que la hembra es más susceptible al medio. Por ejemplo, Juraska y cols. (1985) reportaron mayor número de interacciones dendríticas en ratas macho respecto a las hembras que fueron mantenidas en un ambiente complejo y lo contrario en un ambiente aislado. Así, estos resultados indican que el género de un animal es una variable importante en la respuesta del animal al medioambiente.

El menor número de intersecciones dendríticas en animales mantenidos en aislamiento (Juraska y cols., 1985) podría relacionarse con el hecho de que en madres malnutridas la interacción con su cría se reduce así como el cuidado de éstas. Esto explicaría en parte la reducción observada en el volumen de la capa granular y del sistema de fibras musgosas en animales malnutridos prenatalmente ya que la estimulación de la madre hacia las crías podría ser menor. Otros trabajos que apoyan la idea, de que las hembras son más susceptibles a su medioambiente son los de Loy y Milner (1980) quienes encontraron que las ratas hembras en comparación con los machos muestran un gran crecimiento de los axones que contienen norepinefrina en el GD y el campo CA3 después de la cortar transversalmente la fimbria-fornix. En conjunto estos estudios apuntan a la posibilidad de que el hipocampo sea una estructura más plástica en hembras.

La visión general de que los machos son más susceptibles que las hembras, debe ser reconsiderada al menos en el hipocampo tomando en cuenta el estadio del desarrollo cerebral. Además de la respuesta de la FH a la

malnutrición durante el período prenatal, este trabajo apoya la idea original de que la heterocronía celular y por ende el reconocimiento de conexiones finas para el sustrato neuronal en la integración de funciones, está en función de aquellos factores confluyentes con la región cerebral, la edad, el género y el tipo de factor externo (en este caso la malnutrición) para poder determinar si se debe a uno solo de estos factores.

Finalmente es importante mencionar que no hubo diferencias significativas en el peso corporal y cerebral de los grupos de animales malnutridos prenatalmente, como se encontró en trabajos anteriores realizados en machos con el mismo modelo experimental (Díaz-Cintra y cols., 1994; Cintra y cols., 1997b). Sin embargo, algunas características histológicas de la FH si se alteran. Además este trabajo confirma la importancia de emplear un solo sexo en trabajos de integración y no mezclar machos y hembras en edades juveniles, a pesar de que tengan el mismo peso corporal.

CONCLUSIONES

- 1) Las ratas hembras presentan una mayor susceptibilidad a la malnutrición hipoproteínica prenatal que los machos representada por reducción en el volumen de la capa granular y en el sistema de fibras musgosas.
- 2) El volumen de la capa granular no presenta dimorfismo sexual en animales control.
- 3) En animales malnutridos prenatalmente se observaron diferencias de acuerdo al género en el volumen de la capa granular.
- 4) El volumen del sistema de fibras musgosas presenta diferencias por género tanto en animales control como malnutridos prenatalmente.
- 5) Es importante considerar el sexo de los animales jóvenes en un estudio determinado ya que aunque el peso corporal y cerebral sean semejantes, la morfología fina, en este caso del hipocampo, puede ser diferente entre géneros.
- 6) Deben realizarse estudios de correlación y cuantificación de la segunda sinapsis del circuito trisináptico en animales malnutridos prenatalmente ya que las estructuras analizadas representan la parte presináptica de estas sinapsis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida S. S., J. Tonkiss y J. R. Galler (1996). Prenatal protein malnutrition affects avoidance but not escape behavior in the elevated T-maze test. Physiol Behav 60:191-195.

Altman J., K. Sudarshan, G. Das, N. MacCormick y D. Barnes (1971). The influence of nutrition on neural and behavioral development. iii Development of some motor, particularly locomotor patterns during infancy. Dev Psychobiol 4:97-114.

Altman J. y S. A. Bayer (1990a). Mosaic organization of the hippocampal neuroepithelium and the multiple germinal sources of dentate granule cells. J Comp Neurol 301:325-342.

Altman J. y S. A. Bayer (1990b). Prolonged sojourn of developing pyramidal cells in the intermediate zone of the hippocampus and their settling in the stratum pyramidale. J Comp Neurol 301:343-364.

Altman J. y S. A. Bayer (1990c). Migration and distribution of two populations of hippocampal granule cell precursors during the perinatal and postnatal periods. J Comp Neurol 301:365-381.

Amaral D. G. y M. P. Witter (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. Neuroscience 31:571-591.

Amaral D. G. y J. Dent (1981). Development of the mossy fiber of the dentate gyrus: I. A light and electron microscopic study of the mossy fiber and their expansions. J Comp Neurol 195:51-86.

Andrade J. P., A. J. Castanheira-Vale y M. D. Madeira (1996). Time scale and extent of neuronal and synaptic loss in the hippocampal formation of malnourished adult rats. Brain Res 718:1-12.

Baraban S. C. y P. A. Schwartzkroin (1997). Effects of prenatal cocaine exposure on the developing hippocampus: intrinsic and synaptic physiology. J Neurophysiol 77:126-136.

Bayer S. A. (1980). Development of the hippocampal region in the rat. I. Neurogenesis examined with ³H-Thymidine autoradiography. J Comp Neurol 190:87-114.

Bronzino J. D., R. J. Austin-LaFrance y P. J. Morgane (1990). Effects of prenatal protein malnutrition on perforant path kindling in the rat. Brain Res 515:45-50.

Bronzino J. D., R. J. Austin-LaFrance, P. J. Morgane y J. R. Galler (1991). Effects of prenatal protein malnutrition on kindling-induced alterations in dentate granule cell excitability. Exp Neurol 112:216-223.

Cavazos J. E., G. Golarai y T. P. Sutula (1992). Septotemporal variation of the supragranular projection of the mossy fiber pathway in the dentate gyrus of normal and kindled rats. Hippocampus 2:363-372.

Chronister R. B. y L. E. White Jr. (1975). Fiberarchitecture of the hippocampal formation: Anatomy, projections and structural significance. En: Isaacson R. L. Y K. H. Pribram (Eds.). The hippocampus. Plenum Press. New York. 1:9-37.

Chusid J. G. (1977). El Sistema Nervioso Central. En: Neuroanatomía correlativa y neurología funcional. El Manual Moderno. México. pp. 509.

Cintra L. y S. Díaz (1985). Efecto de la desnutrición proteínica en los núcleos rafe dorsal, locus coeruleus y en las células no piramidales de la corteza visual de la rata. Rev Chil Nutr 13:76-82.

Cintra L., S. Díaz-Cintra, A. Galván, T. Kemper y P. J. Morgane (1990). Effect of protein undernutrition on the dentate gyrus in the rat of three age groups. Brain Res 532:271-277.

Cintra L., L. Granados, S. Díaz-Cintra, T. Kemper y P. J. Morgane (1992). Effects of prenatal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on the dentate gyrus of the rat. Abstract of the Society for Neuroscience. 18:1300.

Cintra L., L. Granados, A. Aguilar, T. Kemper, W. DeBassio, J. Galler, P. Morgane, P. Durán y S. Díaz-Cintra (1997a). Effects of prenatal protein malnutrition on mossy fibers of the hippocampal formation in rats of four age groups. Hippocampus 7:184-191.

Cintra L., A. Aguilar, L. Granados, A. Galván, T. Kemper, W. DeBassio, J. Galler, P. Morgane, P. Durán y S. Díaz-Cintra (1997b). Effects of prenatal protein malnutrition on hippocampal CA1 pyramidal cells in rats of four age groups. Hippocampus 7:192-203.

Cowan W. M., B. B. Stanfield y K. Kishi (1980). The development of the dentate gyrus. En: Hunt R. K. (Eds.). Current topics in developmental biology. Academic Press. New York 15:103-154.

Cravioto J. y R. Arrieta (1985). Nutrición, desarrollo mental, conducta y aprendizaje. Impresiones modernas. México. pp. 191.

Crusio E. W. y H. Schwegler (1987). Hippocampal mossy fiber distribution covaries with open-field habituation in the mouse. Behav Brain Res 26:153-158.

Diamond M. C. (1987). Sex differences in the rat forebrain. Brain Res Rev 12:235-240.

Díaz-Cintra S. y N. A. Ortega (1991). "Histogénesis y morfogénesis en el sistema nervioso central" En: Aspectos comparativos y mecanismos de regulación de la ontogenia neural. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. México. pp. 129-146.

Díaz-Cintra S., L. Cintra, A. Galván, A. Aguilar, T. Kemper y P. J. Morgane (1991). Effects of prenatal protein deprivation on postnatal development of granule cells in the fascia dentata. J Comp Neurol 310:356-364.

Díaz-Cintra S., M. García-Ruiz, G. Corkidi y L. Cintra (1994). Effects of prenatal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of four ages. Brain Res 662:117-126.

Dobbing J. (1976). Vulnerable periods in brain growth and somatic growth. En: Roberts D.F. y A.M. Thompson (Eds.). The biology of human fetal growth. Taylor & Francis. London. pp. 137-147.

Dokas L. (1990). Hippocampal-steroid complexity. TEM 2:120-122.

Durán P. H. (1995). "Análisis de la actividad eléctrica cortical antes y después de la privación selectiva de SMOR en ratas normales y malnutridas" Tesis de Maestría. UACPyP-CCH y Centro de Neurobiología UNAM.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Dyson S. E. y D. G. Jones (1976). Some effects of undernutrition on synaptic development. A quantitative ultrastructural study. Brain Res 114:365-378.

Franková S. (1973). Influence of the familiarity what the environment and early malnutrition on the avoidance learning and behavior in rats. Act Nerv Sup 15:207-216.

Fish I. y M. Winick (1969). Effect of malnutrition on regional growth of the developing rat brain. Exp Neurol 25:534-540.

Frederickson C. J. y G. Danscher (1990). Zinc-containing neurons in hippocampus and related CNS structures. Prog Brain Res 83:71-84.

Gaarskjaer F. B. (1978). Organization of the mossy fiber system of the rat studied in extended hippocampi. I. Terminal area related to number of granule and pyramidal cells. J Comp Neurol 178:49-72.

Gaarskjaer F. B. (1985). The development of the dentate area and the hippocampal mossy fiber projection of the rat. J Comp Neurol 241:154-170.

Gaiarsa J. L., M. Beaudoin y Y. Ben-Ari (1992). Effect of neonatal degranulation on the morphological development of rat CA3 pyramidal neurons: Inductive role of mossy fibers on the formation of thorny excrescences. J Comp Neurol 321:612-625.

Galler J. R. y M. Manes (1980). Gender differences in visual discrimination by rats in response to malnutrition of varying durations. Develop Psychobiol 13:409-416.

García-Ruiz M., L. Parra y S. Díaz-Cintra (1994). Los efectos de la desnutrición sobre los procesos de aprendizaje y memoria en modelos animales. Rev Biomed 5:88-108.

Geinisman Y., H. J. G. Gundersen, E. Van Der Zee y M. J. West (1996). Unbiased stereological estimation of the total number of synapses in a brain region. J Neurocy 25:805-819.

Gould E., A. Westlind-Danielsson, M. Frankfurt y B. S. McEwen (1990). Sex differences and thyroid hormone sensitivity of hippocampal pyramidal cells. J Neurosci 10:996-1003.

Granados L., L. Cintra, A. Aguilar, G. Corkidi, T. Kemper, P. Morgane y S. Díaz-Cintra (1995). Mossy fibers of the hippocampal formation in prenatal malnourished rats. Bol Estud Med Biol 43:3-11.

Gundersen H. J. G. y E. B. Jensen (1987). The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. J Micros 147:229-263.

Holman S. D., P. Collado, J. N. Skepper y A. Rice (1996). Postnatal development of a sexually dimorphic, hypothalamic nucleus in gerbils: a stereological study of neuronal number and apoptosis. J Comp Neurol 376:315-325.

Ishizuka N., W. M. Cowan y D. G. Amaral (1995). A quantitative analysis of the dendritic organization of pyramidal cells in the rat hippocampus. J Comp Neurol 362:17-45.

Jones A. P. y M. I. Friedman (1982). Obesity and adipocyte abnormalities in offspring of rats undernourished during pregnancy. Science 215:1518-1519.

Juraska J. M., J. M. Fitch, C. Henderson y N. Rivers (1985). Sex differences in the dendritic branching of dentate granule cells following differential experience. Brain Res 333:73-80.

Juraska J. M., J. M. Fitch y D. L. Washburne (1989). The dendritic morphology of pyramidal neurons in the rat hippocampal CA3 area. II. Effects of gender and the environment. Brain Res 479:115-119.

Juraska J. M. (1990). Gender differences in the dendritic tree of granule neurons in the hippocampal dentate gyrus of weaning age rats. Dev Brain Res 53:291-294.

Kaplan B. J. (1972). Malnutrition and mental deficiency. Psych Bull 78:321-334.

Katz H. B., C. A. Davies y J. Dobbing (1982). Effects of undernutrition at different ages early in life and later environmental complexity on parameter of the cerebrum and hippocampus in rats. J Nutr 112:1362-1368.

Katz H. B. y C. A. Davies (1983). The separate and combined effects of early undernutrition and environmental complexity at different ages on cerebral measures in rats. Dev Psychobiol 16:47-58.

Larriva-Sahd J., A. Rondán-Zárate y M. Ramírez-Degollado (1995). Sexually dimorphic contribution from the fornix to the ventromedial hypothalamic nucleus: a quantitative electron microscopic study. Neurosci Lett 200:147-150.

Laughlin N. K., S. Finger y J. Bell (1984). Early undernutrition and later hippocampal damage: effects on spontaneous behaviors and reversal learning. Physiol Psycho 11:269-277.

Lewis P. D., A. J. Patel y R. Belazs (1979). Effect of undernutrition on cell generation in the rat hippocampus. Brain Res 168:186-189.

Lorente de Nó R. (1934). Studies on the structure of the cerebral cortex. II continuation of the study of the ammonic system. J Psychol Neurol 46:133-177.

Loy R. (1986). Sexual dimorphism in the septohippocampal system. En: Isaacson R. L. y K. H. Pribram. *The Hippocampus*. Plenum Press. New York. 3:301-321.

Loy R. y T. A. Milner (1980). Sexual dimorphism in extent of axonal sprouting in rat hippocampus. Science 208:1282-1284.

MacLusky N. J. y F. Naftolin (1981). Sexual differentiation of the central nervous system. Science 211:1294-1303.

Madeira M. D., M. M. Paula-Barbosa, A. Cadete-Leite y M. A. Tavares (1988). Unbiased estimate of hippocampal granule cell numbers in hypothyroid and in sex-age-matched control rats. J Hirnforsch 29:643-650.

Madeira M. D., N. Sousa y M. M. Paula-Barbosa (1991a). Sexual dimorphism in the mossy fiber synapses of the rat hippocampus. Exp Brain Res 87:537-545.

Madeira M. D., A. Cadete-Leite, J. P. Andrade y M. M. Paula-Barbosa (1991b). Effects of hypothyroidism upon the granular layer of the dentate gyrus in male and female adult rats: A morphometric study. J Comp Neurol 314:171-186.

Madeira M. D., N. Sousa, M. T. Lima-Andrade, F. Calheiros, A. Cadete-Leite y M.M. Paula-Barbosa (1992). Selective vulnerability of the hippocampal pyramidal neurons to hypothyroidism in male and female rats. J Comp Neurol 322:501-518.

Madeira M. D. y M. M. Paula-Barbosa (1993). Reorganization of mossy fiber synapses in male and female hypothyroid rats: A stereological study. J Comp Neurol 337:334-352.

Madeira M. D. y A. R. Lieberman (1995). Sexual dimorphism in the mammalian limbic system. Prog Neurobiol 45:275-333.

Mareň S. (1995). Sexually dimorphic perforant path long-term potentiation (LTP) in urethane-anesthetized rats. Neurosci Lett 196:177-180.

Márquez-Orozco M. C. (1991). "Bases morfológicas y fisiológicas del desarrollo del sistema nervioso". En: Aspectos comparativos y mecanismos de la regulación de la ontogenia neural. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. México. pp. 73-128.

McLaren D. S. (1981). Nutritional Disorders. Wolfe Medical Publications Ltd. London. pp.109.

Michel R. P. y L. M. Cruz-Orive (1988). Application of the Cavalieri principle and vertical sections method to lung: Estimation of volume and pleural surface area. J Microsc 150:117-136.

Morgane P. J., R. Austin La-France, J. D. Bronzino (1992). Impact of prenatal protein malnutrition on long-term potentiation in juvenile rats. Abstract of the Society for Neuroscience 18:1301.

Morgane P. J., R. Austin-LaFrance, J. Bronzino, J. Tonkiss, S. Díaz-Cintra, L. Cintra, T. Kemper y J.R. Galler. (1993) Prenatal malnutrition and development of the brain. Neurosc Biobehav Rev 17:91-128.

Murphy D. G. M., C. DeCarli, A. R. McIntosh, E. Daly, M. J. Mentis, P. Pietrini, J. Szcapanik, M. B. Schapiro, C. L. Grady, B. Horwitz y S. I. Rapoport (1996). Sex differences in human brain morphometry and metabolism: an in vivo quantitative magnetic resonance imaging and positron emission tomography study on the effect of aging. Arch Gen Psychiatry 53:585-594.

Nauta W. J. H. y M. Feirtag (1987). Fundamentos de neuroanatomía. Labort. España pp. 339.

Nordeen E. J., K. W. Nordeen, D. R. Sengelaub y A. P. Arnold (1985). Androgens prevent normally occurring cell death in a sexually dimorphic spinal nucleus. Science 229:671-673.

Parduez A. y L. M. García-Segura (1993). Sexual differences in the synaptic connectivity in the rat dentate gyrus. Neurosci Lett 161:53-56.

Parra G. L. (1995). "Alteraciones neuroanatómicas del hipocampo y de algunos procesos cognitivos en ratas sometidas a una dieta hipoproteínica posnatal". Tesis de Maestría. Centro de Neurobiología, UNAM.

Pérez J., F. Naftolin y L. M. García-Segura (1990). Sexual differentiation of synaptic connectivity and neuronal plasma membrane in the arcuate nucleus of the rat hypothalamus. Brain Res 527:116-122.

Ramón y Cajal, S. (1911). Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés. Trans. En: L. Azoulay. Consejo superior de Investigaciones Científicas. Instituto Ramón y Cajal. Madrid. 2:986-993.

- Reisert I., K. Lieb, C. Beyer y C. Pilgrim (1996). Sex differentiation of rat hippocampal GABAergic neurons. Eur J Neurosci 8:1718-1724.
- Rolls E. T. (1996). A Theory of hippocampal function in memory. Hippocampus 6:601-620.
- Roof R. L. (1993). The dentate gyrus is sexually dimorphic in prepubescent rats: testosterone plays a significant role. Brain Res 610:148-151.
- Sackett G. P. (1974). Sex differences in rhesus monkeys following varied rearing experience. En Friedman R. C., R. M. Richart y R. L. Vande Wiele (Eds.). Sex Differences in Behavior. J. Wiley y Sons. New York. pp. 99-122.
- Salas M. y C. Torrero (1979). Maternal behavior of rats undernourished in the early posnatal period. Bol Estud Méd Biol 30:237-244.
- Sapolsky R. M. (1986). Glucocorticoid toxicity in the hippocampus: reversal by supplementation with brain fuel. J Neurosci 6:2240-2244.
- Scheider L. W. (1985). Nutrición: conceptos básicos y aplicaciones. McGraw-Hill México, pp. 571.
- Soriano E. y M. Frotscher (1989). A GABAergic axo-axonic cell in the fascia dentata controls the main excitatory hippocampal pathway. Brain Res 503:170-174.
- Thompson S. M. (1994). Modulation of inhibitory synaptic transmission in the hippocampus. Prog Neurobiol 42:575-609.
- Trenerry M. R., C. R. Jack Jr., G. D. Cascino, F. W. Sharbrough y R. J. Ivnik (1995). Gender differences in post-temporal lobectomy verbal memory and relationships between MRI hippocampal volumes and preoperative verbal memory. Epilepsy Res 20:69-76.
- West C. D. y T. L. Kemper (1976). The effect of a low protein diet on the anatomical development of the rat brain. Brain Res 107:221-237.
- West J. R. y C. A. Hodges-Savola (1983). Permanent hippocampal mossy fiber hyperdevelopment following prenatal ethanol exposure. Neurobehav Toxicol Teratol 5:139-150.
- West M., J. F. B. Gaarskjaer y G. Danscher (1984). The Timm-stained hippocampus of the european hedgehog: a basal mammalian form. J Comp Neurol 226:477-488.
- Wimer C. C., R. E. Wimer y L. Alameddine (1988). On the development of strain and sex differences in granule cell number in the dentate area of house mice. Dev Brain Res 42:191-197.
- Zimmer J. (1978). Development of the hippocampus and fascia dentata: morphological and histochemical aspects. Prog Brain Res 48:171-190.
- Zimmer J. y F. M. Haug (1978). Laminar differentiation of the hippocampus, fascia dentata and subiculum in developing rats, observed with the Timm sulphide silver method. J Comp Neurol 179:581-618.