



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

CAMPUS IZTACALA

EFFECTO DE LA DESNUTRICION SOBRE EL  
POTENCIAL DE ACCION COMPUESTO (PAC)  
DEL NERVIO SURAL DURANTE EL  
DESARROLLO POSTNATAL DE LA RATA  
(Ratus norvegicus var. Wistar)

283765

T E S I S

QUE PARA OBTENER LA LICENCIATURA EN

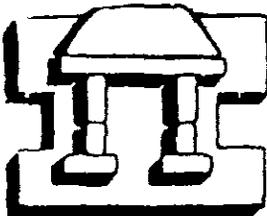
B I O L O G I A

P R E S E N T A

ANA LILIA GUTIERREZ LOZANO

DIRECTOR:

DR. ISMAEL JIMENEZ ESTRADA



IZTACALA

LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MEX.  
JULIO DEL 2000



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.

*Si te atrae una lucecita, siguela.  
Si te conduce al pantano, ya saldrás de él.  
Pero si no la sigues,  
toda la vida te mortificarás pensando  
que acaso era tu estrella.*

*Séneca*

# *Dedicatoria*

*Al Consolador*

*A mis queridos padres, Alfonso y  
Margarita, por haberme dado el lujo de  
estudiar Biología.*

*A mi esposo Diógenes y a mi hija  
Mariana, por ser las lucecitas que me  
llevan más lejos.*

## AGRADECIMIENTOS

A la Maestra *Bertha Segura Alegría* y al Doctor *Ismael Jiménez Estrada*, por la ayuda y la paciencia proporcionadas durante la realización de los experimentos y la corrección de este trabajo.

A la M. en C. *Abigail Betanzos Fernández*, por su preciosa amistad y por haberme enseñado a usar la computadora.

Al Químico *José Carlos Guadarrama Olmos*, por el cuidado de los animales y por el apoyo en la realización de los experimentos.

Al Ingeniero *Diógenes Chávez García*, por su colaboración en el entendimiento de la parte eléctrica del diseño experimental.

Al Doctor *Pablo Rudomín* y al Departamento de Fisiología del CINVESTAV, por el apoyo económico y por todas las facilidades prestadas para la realización de esta tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por apoyar parcialmente la realización de esta tesis con el donativo 26342-N.

A mis sinodales: Biólogos *Javier Alonso Trujillo*, *Jorge Gerszenowies Rodríguez* y *Hugo Castro Cortez*, por la revisión, y ayuda en la corrección, de esta tesis.

# Í N D I C E

	Página
RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN	
<b>NUTRICIÓN Y DESNUTRICIÓN</b>	
1. Funciones de los grupos de nutrientes.....	3
2. Proporción y cantidad de nutrientes.....	3
3. Desnutrición.....	4
4. Factores que modulan los efectos de la desnutrición.....	4
5. Grados de daño ocasionados por la desnutrición.....	5
<b>SISTEMA NERVIOSO</b>	
6. Unidad estructural: Neurona. Tipos y partes.....	6
7. Unidad funcional: Potencial de Acción. Fases.....	8
8. Función: Receptor, Vía Conductor, Efecto.....	12
9. Receptores sensoriales. Tipos de sensaciones.....	14
10. Nervios periféricos. Tipos.....	14
11. Mielinización.....	15
12. Tipos de fibras nerviosas.....	16
13. Potencial de Acción Compuesto.....	18
ANTECEDENTES.....	20
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	24
METODOLOGÍA	
1. Animales y condiciones ambientales.....	26
2. Tratamientos experimentales.....	26
3. Dieta del grupo control.....	26
4. Dieta del grupo sujeto a desnutrición.....	26
5. Montaje de la preparación experimental.....	27
6. Obtención de los registros electrofisiológicos.....	28
7. Análisis de los PAC's.....	29
8. Análisis estadístico.....	30
RESULTADOS	
1. Efecto de la desnutrición sobre el peso corporal.....	31
2. Registros electrofisiológicos del nervio sural.....	33
3. Efecto de la desnutrición sobre los parámetros del PAC.....	36
4. Efecto de la desnutrición sobre las curvas veces umbral-amplitud.....	42
5. Efecto de la desnutrición sobre las curvas intensidad-duración.....	46
DISCUSIÓN	
1. Efecto de la desnutrición sobre el peso corporal.....	51
2. Efecto de la desnutrición sobre los parámetros del PAC.....	52
3. Umbral.....	52
4. Amplitud y Área.....	53
5. Velocidad de conducción.....	54
6. Periodo Refractorio.....	56
CONCLUSIONES.....	59
PERSPECTIVAS.....	60
APÉNDICE I (Registros histológicos).....	61
APÉNDICE II (Tablas de Resultados).....	64
APÉNDICE III (Tablas de pruebas de f).....	67
APÉNDICE IV (Elaboración de Electrodo de succión).....	71
BIBLIOGRAFÍA.....	73

## RESUMEN

El efecto de la desnutrición sobre el Sistema Nervioso Central (SNC) ha sido motivo de numerosos estudios morfológicos, bioquímicos y fisiológicos, en los que se ha puesto de manifiesto que la migración, proliferación y diferenciación neuronales se ven afectadas. Sin embargo, existen pocas referencias de estudios que analicen las alteraciones que produce el aporte insuficiente de nutrientes en el Sistema Nervioso Periférico, y menos aún, en relación a las respuestas electrofisiológicas generadas en los axones de los nervios cutáneos.

Por lo anterior, y debido a la importancia de la recepción sensorial vía los nervios cutáneos, el objetivo de la presente investigación fue analizar el efecto de la desnutrición perinatal (gestacional y postnatal) sobre las propiedades funcionales del Potencial de Acción Compuesto (PAC) del nervio sural de ratas en desarrollo. Para lograr tal objetivo, el diseño experimental se dividió en dos etapas:

1. Producción de los organismos. Se utilizaron crías de ratas control y desnutridas de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal. Las crías desnutridas se consiguieron alimentando a la rata madre con el 50% del alimento que consumía una rata control durante los periodos de gestación y lactancia; en tanto que las ratas madre y crías control, se alimentaron *ad libitum*.
2. Registro del PAC. Las crías control y desnutridas de las edades mencionadas fueron pesadas y anestesiadas y se les disecó el nervio sural de las extremidades posteriores. El nervio sural se colocó en una cámara con solución Krebs precalentada a 37°C y se insertó en electrodos de succión para su estimulación y registro.

La estimulación de los nervios produjo un Potencial de Acción Compuesto (PAC), integrado por la suma de los potenciales de acción individuales de las fibras mielinizadas del grupo A. Estas fibras provienen de receptores sensoriales localizados en la piel y detectan sensaciones relacionadas con tacto, presión, temperatura, vibración, dolor, etc.

Los parámetros que se midieron en los PAC's de los nervios de ratas control y desnutridas fueron: el umbral de activación de las fibras más excitables, la amplitud a diferentes intensidades de estimulación, el área, la duración, la velocidad de conducción, el período

refractario poblacional absoluto y el umbral a diferentes duraciones de estimulación (curvas intensidad-duración); de esto último, se desprendieron los valores de reobase y cronaxia.

Los resultados obtenidos en los experimentos muestran que el peso de las ratas sometidas a la desnutrición perinatal fue considerablemente menor que el de las ratas control (porcentajes de decremento del 44 al 73%). Por su parte, en los registros del PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas, se hallan diferencias estadísticamente significativas entre la amplitud, el área, la velocidad de conducción y las curvas  $n$  veces umbral-amplitud derivadas de los nervios de ratas de 30 días de edad; en tanto que para el umbral de activación eléctrica, las curvas duración-intensidad y la reobase, las diferencias significativas se hallan entre los nervios de 8 y 16 días postnatales. Los parámetros en los que no se encontraron diferencias significativas entre los lotes control y desnutrido fueron la duración, el período refractario absoluto y la cronaxia.

Esto permite sugerir que la deficiencia alimentaria modifica el crecimiento normal del diámetro y la excitabilidad de las fibras del nervio sural, y además afecta al proceso de mielinización de los axones de las ratas en desarrollo; en tanto que la capacidad de regeneración de las fibras más excitables no se ve alterada significativamente.

# INTRODUCCIÓN

## NUTRICIÓN Y DESNUTRICIÓN

La nutrición es uno de los factores ambientales con mayor importancia en el desarrollo de un organismo, ya que éste requiere un aporte adecuado de nutrientes para realizar normalmente todas sus funciones vitales (Morgane *et al.*, 1993).

Por medio de los alimentos, los animales regulan sus niveles de nutrientes y energía, lo cual promueve su crecimiento, reproducción, salud y sobrevivencia (Wurtman y Wurtman, 1977). Existen diversos grupos de nutrientes y cada uno de ellos desempeña labores específicas en la economía corporal.

### 1. Funciones de los grupos de nutrientes

Las **proteínas** son fundamentales en el mantenimiento de la estructura de células y tejidos, en el crecimiento (formación de tejidos), y en la construcción y reparación de sistemas enzimáticos, hormonales y vitamínicos. También poseen aminoácidos precursores de neurotransmisores (Winick, 1979).

Los **lípidos** integran las membranas de células y organelos, y además de constituir algunas hormonas y vitaminas, contribuyen al mantenimiento de la reserva energética del cuerpo. Además, son esenciales en procesos de formación del cerebro (gangliósidos y cerebrósidos) (*Ibid*).

Los **carbohidratos** tienen como función principal proporcionar energía, aunque también conforman a las glucoproteínas de las membranas celulares y se integran a algunas enzimas (*Ibid*).

### 2. Proporción y cantidad de nutrientes

La proporción y cantidad de cada grupo de nutrientes dependen de la especie y de la etapa del desarrollo en la que los organismos se encuentren. Por ejemplo, durante su desarrollo embrionario, la rata requiere mayor cantidad de carbohidratos que de lípidos, en tanto que durante la lactancia, esta proporción se invierte (Hahn, 1979).

Por su parte, el metabolismo de las proteínas en la rata consta de dos fases: durante las primeras etapas de gestación, el exceso de proteínas se deposita en los tejidos maternos como resultado de adaptaciones enzimáticas que están bajo control hormonal; mientras que en etapas tardías del embarazo, los cambios en las concentraciones de hormonas determinan el inicio de una fase catabólica en la cual las proteínas maternas almacenadas se utilizan en el proceso de crecimiento rápido del producto (McLaren, 1983).

### **3. Desnutrición**

La desnutrición puede aparecer cuando la proporción entre calidad y cantidad de nutrientes se altera, aunque el organismo tiene la capacidad de adaptarse a disminuciones en el aporte de alimentos (*Idem*).

Por definición, la desnutrición es la disminución en la cantidad total de calorías que requiere un organismo (Morgane *et al.*, 1992) y puede ocasionar daños estructurales, funcionales o conductuales que dependen de los factores que se mencionan a continuación.

### **4. Factores que modulan los efectos de la desnutrición**

La severidad o grado de daño producido por la desnutrición, depende del tipo, etapa y duración de ésta.

El **tipo de desnutrición** está determinado por la privación alimenticia que sufre el organismo, es decir, si ésta se halla ocasionada por la ingesta de una cantidad inadecuada de todos los grupos de nutrientes o por la privación específica de alguno de ellos (tabla 1).

La **etapa** en la que se produce la desnutrición puede ser *gestacional*, *postnatal temprana* o *postnatal tardía*. Cabe señalar que a la desnutrición experimentada durante el desarrollo embrionario y la lactancia se le denomina *desnutrición perinatal* y, es durante esos periodos cuando las deficiencias nutricionales ocasionan un mayor daño estructural y funcional en los organismos (*op. cit.* 1993).

La **duración** es el intervalo en el que no se ingiere una proporción adecuada de nutrientes. Si el periodo de desnutrición es corto, se producen pequeñas discrepancias en los niveles de nutrientes y energía, pero si éste es muy prolongado, el organismo puede sufrir daños irreversibles o morir (tabla 1).

TIPO	* Carbohidratos, lípidos, proteínas * Elementos traza * Vitaminas
ETAPA	* Gestacional * Postnatal temprana * Postnatal tardía * Perinatal
DURACIÓN	* Aguda * Subaguda * Crónica

Tabla 1. Clasificación de los factores que modulan los grados de daño ocasionados por la desnutrición (Modificado de McLaren, 1983).

Por otro lado, uno de los principales problemas en el estudio de las deficiencias nutricionales radica en establecer las características que debe presentar un organismo para que se considere "desnutrido".

En la mayoría de las investigaciones se utilizan parámetros morfométricos tales como la talla o el peso, y en base a éstos se determina si el animal ha sido afectado por la privación alimenticia.

### 5. Grados de daño ocasionados por la desnutrición

Utilizando el peso corporal como referencia pueden identificarse tres grados de desnutrición (Gómez, 1987):

- a) **Desnutrición leve.** Se presenta cuando un organismo no ingiere alimentos en cantidad suficiente, o cuando su dieta no incluye algún nutriente esencial. Los animales que la sufren tienen del 76 al 90% del peso normal de un organismo de su edad y especie.
- b) **Desnutrición moderada.** Se debe a la existencia de alguna malformación o enfermedad de origen genético o ambiental que impide digerir o asimilar los alimentos (60 a 75% del peso normal).
- c) **Desnutrición severa.** Afecta principalmente a los organismos jóvenes o recién nacidos (40% del peso normal). Este grado de desnutrición se manifiesta bajo dos formas: marasmo (falta de proteínas) y kwashiorkor (deficiencia severa de carbohidratos) (op. cit. 1983).

Actualmente -según un reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS)- existen alrededor de 230 millones de niños desnutridos en el mundo (Quirk *et al.*, 1995). Esta y otras cifras más alarmantes, han planteado la necesidad de estudiar los efectos de la desnutrición en

las estructuras corporales más susceptibles de sufrir alteraciones. A este respecto, se ha demostrado que la desnutrición puede retardar la maduración o impedir permanentemente el desarrollo del Sistema Nervioso, por lo cual es muy importante examinar los efectos que causa en la estructura y fisiología de este sistema (*op. cit.* 1992).

## SISTEMA NERVIOSO

Para entender el daño que causa la desnutrición en el Sistema Nervioso (SN), es necesario revisar cómo está constituido anatómicamente y funcionalmente.

### 6. Unidad Estructural: Neurona

Desde el punto de vista histológico, el tejido nervioso está constituido por neuronas y células gliales. Las neuronas son células altamente especializadas que poseen la propiedad de transmitir o procesar información, mientras que las células de la glía proporcionan sostén y nutrición a las neuronas (Junge, 1981).

La mayor parte de las neuronas se hallan localizadas en el Sistema Nervioso Central (encéfalo y médula espinal), y se les clasifica en tres tipos (*tríada neuronal*):

- 1) **Neuronas sensitivas**, que transmiten la información de los receptores sensoriales (órganos de los sentidos y otros) al Sistema Nervioso Central (SNC).
- 2) **Neuronas motoras**, en las que los mensajes viajan del SNC a los efectores musculares o glandulares, y
- 3) **Neuronas de asociación o interneuronas**, las cuales poseen numerosas ramificaciones que las conectan con otras células nerviosas, y juegan un papel muy importante en la integración de la información sensorial y/o motora, es decir, participan en la coordinación de los impulsos sensoriales y en la generación de patrones motores (Eckert *et al.*, 1992).

Generalmente todas las neuronas presentan un cuerpo celular (*soma* o *pericarión*) del que surgen dos tipos de prolongaciones nerviosas o *neuritas*: las *dendritas* y el *axón* (figura 1).

En el *soma* de la neurona se encuentran el núcleo y casi toda la maquinaria sintética y metabólica de la célula, pues en él se fabrican los materiales requeridos para el crecimiento, mantenimiento y reparación de las estructuras celulares (Jacobson, 1991).

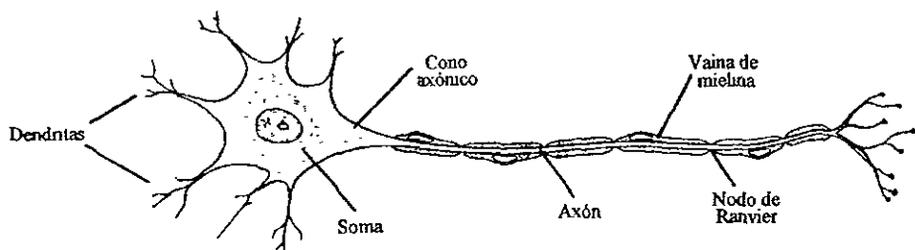


Figura 1. Representación esquemática de una célula nerviosa. Se observan el soma y sus prolongaciones: las dendritas y el axón o fibra nerviosa. El axón y la vaina de mielina que le rodea se muestran en sección longitudinal (Modificado de Eckert et al., 1992).

Las **dendritas** son proyecciones cortas y gruesas que reciben la mayor parte de los mensajes que llegan a la célula nerviosa. El **axón** es delgado y mucho más largo que las dendritas, con ninguna o muy pocas ramificaciones, y su función es transmitir los mensajes que llegan a la neurona (*op. cit.* 1981).

Como se ha venido mencionando, la propiedad más importante de una neurona radica en su capacidad para comunicarse con otras células, y por ello, las células nerviosas son capaces de generar, integrar y conducir diversas señales eléctricas.

Entre las señales eléctricas que se producen en las neuronas pueden citarse el potencial de receptor sensorial, los potenciales sinápticos y los potenciales de acción; a los dos primeros se les denomina *potenciales electrotonicos graduados*, debido a que su amplitud depende de la intensidad del estímulo o del número de células conectadas a la neurona; en cambio, los potenciales de acción son respuestas de amplitud constante que se propagan activamente a lo largo del axón (Cota, 1991).

Los potenciales graduados pueden originarse en zonas receptoras especializadas o en el soma neuronal, mientras que los *potenciales de acción* empiezan a propagarse desde el cono axónico, que es una pequeña región situada entre el soma y el axón (figura 1).

Como todos los potenciales mencionados, los potenciales de acción se producen en respuesta a un estímulo, y debido a su gran importancia, merecen un análisis más detenido.

## 7. Unidad Funcional: Potencial de Acción

El potencial de acción (PA), espiga o impulso nervioso es un cambio transitorio en el potencial de membrana, es decir, en el voltaje o diferencia de potencial eléctrico que existe entre las caras interna y externa de la membrana neuronal. Este cambio de voltaje está asociado a un flujo de iones inorgánicos (que pueden ser sodio, potasio, calcio y/o cloruro, dependiendo de la región neuronal en la que se genere) que se desplaza a través de canales presentes en las proteínas que integran a la membrana nerviosa. A estas proteínas se les denomina canales iónicos y son específicas para cada tipo de ión (*Ibidem*).

Aunque es un fenómeno continuo, el potencial de acción puede explicarse considerando varias fases (figura 2):

**Fase de Reposo.** Cuando la neurona está en reposo (antes de que se inicie propiamente el potencial de acción), en la solución intracelular existe una gran concentración de iones  $K^+$  pero sólo una pequeña cantidad de iones  $Na^+$  y  $Cl^-$ , en tanto que en la solución extracelular esta proporción se invierte (tabla 2).

TIPO DE IÓN	SOLUCIÓN INTRACELULAR (mM)	SOLUCIÓN EXTRACELULAR (mM)
Sodio ( $Na^+$ )	30	117
Potasio ( $K^+$ )	90	3
Cloro ( $Cl^-$ )	4	120
Aniones (-)	116	0

Tabla 2. Concentraciones iónicas milimolares (mM) en las soluciones intra y extracelular de una célula excitable de rana en reposo. No se consideran los iones calcio y magnesio, debido a que su contribución al potencial de membrana es mínima (Adaptado de Nicholis *et al.*, 1992).

La distribución total de los iones a ambos lados de la membrana satisface tres características fisicoquímicas principales:

1. Las soluciones del interior y exterior son eléctricamente neutras,
2. La concentración osmótica de los iones intracelulares y de las moléculas en solución es igual a la que se encuentra en el fluido extracelular, y
3. No existe flujo neto de ningún ión permeable a través de la membrana (Nicholis *et al.*, 1992).

La membrana en reposo es impermeable a los aniones y permeable a los iones potasio, sodio y cloruro, con una permeabilidad de 50 a 100 veces mayor para los iones potasio que para los iones sodio (Guyton y Hall, 1996). En consecuencia, los iones potasio comienzan a salir de la célula, y se acumulan cargas positivas en la superficie externa de la membrana y un exceso de cargas negativas en la superficie interna. Esto crea una diferencia de voltaje transmembranal que, cuando es suficientemente grande, detiene la salida de potasio y se denomina **potencial de reposo**. Cabe señalar que el potencial de reposo es determinado principalmente por las concentraciones interna y externa de potasio, pero es influenciado también por el sodio y en mucha menor extensión, por el cloruro (*Ibid*).

En esta fase, el gradiente de concentración y el gradiente eléctrico a través de la membrana para el potasio, están en un balance perfecto y se dice que el  $K^+$  está en equilibrio electroquímico. El potencial de equilibrio para el potasio ( $E_K$ ), en términos de concentraciones iónicas intracelulares y extracelulares está dado por la ecuación de Nernst:

$$E_K = RT / zF \ln [K]_e / [K]_i$$

donde:

R es la constante termodinámica de los gases;

T, la temperatura absoluta;

z, la valencia del ión;

F, el Faraday (número de coulombios de carga eléctrica en un mol de un ión monovalente);

$[K]_e$ , la concentración milimolar externa de potasio, y

$[K]_i$ , la concentración milimolar interna de este mismo ión.

Por su parte, el sodio está mucho más concentrado en el fluido extracelular que en el citoplasma, así que para oponerse a la entrada de sodio, la membrana debe hacerse positiva en el interior, lo cual determina que el potencial de equilibrio para el sodio ( $E_{Na}$ ) sea positivo. Entonces, en una célula normal con un potencial de reposo negativo, el gradiente de concentración y el potencial de membrana están a favor del movimiento de sodio hacia el interior. Aunque la membrana en reposo es poco permeable al sodio, la fuga interna de sodio despolariza la membrana y desfasa el potencial de equilibrio del potasio, así que existe una fuga de potasio hacia el exterior. Para mantener un estado fijo con estas fugas continuas, el

sodio es transportado activamente hacia fuera y el potasio hacia dentro, a través de la membrana celular (*Ibid*).

El potencial de membrana depende de las permeabilidades relativas de la membrana celular al sodio y al potasio. Si la permeabilidad es mucho más grande para el potasio que para el sodio, el potencial de membrana está cercano al potencial de equilibrio del potasio. Si por el contrario, la permeabilidad al potasio es relativamente más pequeña, entonces el potencial de membrana estará cercano al potencial de equilibrio para el sodio (*Ibid*).

**Fase de Despolarización.** El potencial de acción se inicia cuando la membrana es estimulada mecánica, química o eléctricamente. El estímulo ocasiona una despolarización (el interior de la membrana se vuelve positivo) que propicia que los canales de sodio dependientes de voltaje se abran rápidamente (incremento en la conductancia al sodio:  $g_{Na}$ ) y que la permeabilidad a este ión aumente unas 500 veces, lo cual provoca que fluya una corriente interna de  $Na^+$ . Esta corriente propicia que se abran más canales y consecuentemente, induce una corriente mayor de  $Na^+$  hacia el interior. De este modo, se inicia un ciclo regenerativo que hace imposible alcanzar un potencial de membrana estable. Este ciclo de retroalimentación positiva conduce eventualmente al potencial de equilibrio para el sodio y al pico del potencial de acción (Kandell *et al.*, 1995).

**Fase de Repolarización.** El estado despolarizado del potencial de acción limita su duración de dos formas: 1) inactivando gradualmente los canales de sodio (reducción en  $g_{Na}$ ) y 2) abriendo, con algo de retraso, los canales de  $K^+$  dependientes de voltaje, lo cual incrementa la conductancia al potasio:  $g_K$ . Consecuentemente, la corriente interna de sodio es seguida por una corriente externa de potasio que tiende a repolarizar la membrana volviéndola a su nivel basal negativo (*Ibidem*).

**Fase de Hiperpolarización.** En la mayoría de las células nerviosas, el potencial de acción es seguido por una hiperpolarización transitoria, la postpotencial. Ésta es un breve incremento en la negatividad del potencial de membrana, debido a que los canales de potasio que se abren durante la fase de repolarización tardan unos cuantos milisegundos en cerrarse, después de que la membrana ha alcanzado el potencial inicial de reposo (*Ibidem*).

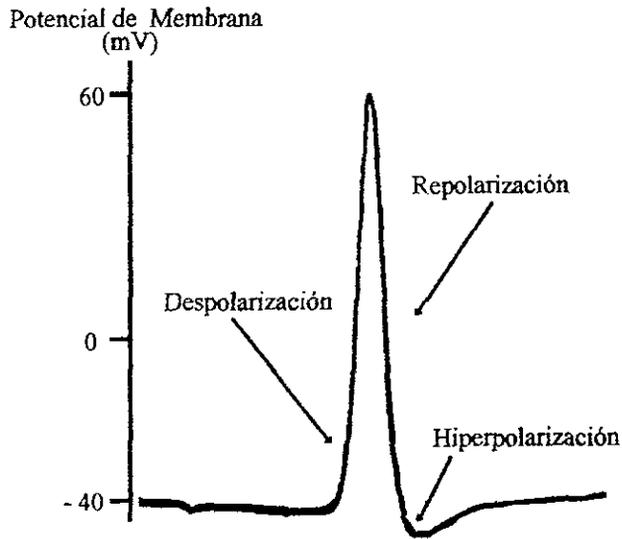


Figura 2. Registro intracelular de un potencial de acción en el axón gigante de calamar. Se muestran las fases de despolarización, repolarización e hiperpolarización, que modifican el potencial de membrana durante el impulso nervioso (Modificado de Junge, 1981).

Una vez generada una espiga, las concentraciones de iones sodio y potasio en el interior y exterior de la membrana se restablecen mediante la acción de la bomba sodio-potasio. Ésta, expulsa tres iones sodio por cada dos iones potasio llevados hacia el interior de la célula nerviosa. Dado que esta bomba no es eléctricamente neutra, contribuye directamente al potencial de membrana y se dice que es electrogénica; además, como necesita energía para funcionar, recargar la membrana nerviosa es un proceso metabólico que utiliza el ATP de la célula (*op. cit.* 1992).

El impulso nervioso es "todo o nada", es decir, si el estímulo alcanza o excede el umbral eléctrico de excitación de la membrana nerviosa (que varía de una neurona a otra), se dispara una respuesta de amplitud constante, independientemente de la intensidad del estímulo aplicado; y si la intensidad del estímulo no llega al umbral (corriente necesaria para desencadenar un impulso nervioso), puede generarse un potencial electrofónico de pequeña amplitud, pero no un potencial de acción (*op. cit.* 1981).

Por otro lado, la propagación del impulso nervioso se da gracias a su propiedad regeneradora, pues cuando se produce un PA en algún punto de la membrana, las porciones aledañas a ese sitio se excitan, generando un impulso que se propaga a cada lado y a todo lo largo de la membrana neuronal (*op. cit.* 1992).

Sin embargo, la membrana no puede excitarse constantemente, ya que existe un intervalo temporal inmediatamente posterior a la generación de un impulso nervioso, durante el cual es prácticamente imposible desencadenar potenciales de acción, a pesar de que el estímulo aplicado sea mayor que el que activó previamente a la membrana nerviosa. Esto es debido a la *inactivación temporal* de los canales de sodio. A este tiempo se le denomina **periodo refractario absoluto** y es seguido por otro intervalo llamado **periodo refractario relativo**, en el que se precisa de estímulos de mayor intensidad para propiciar la respuesta de la membrana, pues con la corriente generada por estos estímulos, se vence la alta permeabilidad al potasio y se incrementa de manera suficiente la permeabilidad al sodio (Gordon, 1979).

A través del potencial de acción, el Sistema Nervioso puede transmitir, integrar y responder la información que recibe, o dicho de otro modo, puede regular la gran gama de funciones que realiza un organismo.

### **8. Función (Receptor, Vía Conductor, Efecto).**

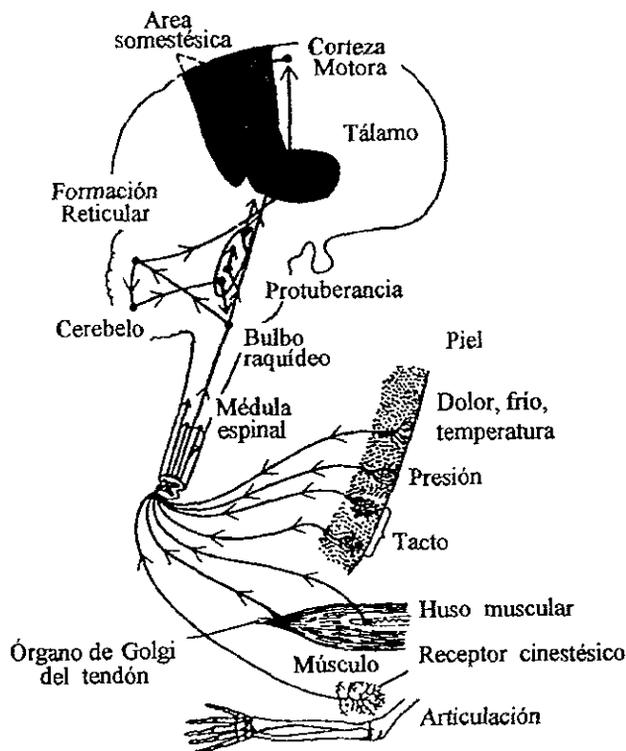
La mayoría de las funciones del Sistema Nervioso parten de una experiencia sensitiva que proviene de los receptores sensoriales. Esta sensación puede producir una respuesta inmediata o conservarse en el cerebro durante minutos, semanas o años, y servir para determinar las reacciones del cuerpo en una situación posterior (*op. cit.* 1996).

En este proceso sensación-respuesta, existen tres componentes básicos que se hallan relacionados con el sistema modulador o integrador, que es propiamente el Sistema Nervioso. Estos componentes son el receptor, el sistema conductor y el efector (figura 3).

El receptor puede ser cualquiera de las estructuras sensoriales capaces de detectar algún cambio en el medio interno o externo, y se encarga de proporcionar los impulsos nerviosos necesarios para desencadenar una respuesta.

El **sistema conductor** es aquel que transmite la información desde el receptor hasta el efector. La vía conductora puede ser muy simple o muy compleja, según la extensión del tejido nervioso por el que se transmite la información antes de llegar al efector (*ibid*).

El **efector** es el órgano que responde a los impulsos desencadenados por el receptor. Entre los diferentes tipos de efectores se encuentran el músculo esquelético, el músculo liso de las vísceras y las células glandulares (*ibid*).



**Figura 3.** Vía de la sensibilidad somática del Sistema Nervioso. Se observan los receptores sensoriales de la piel, los músculos y las articulaciones en relación con la médula espinal y el cerebro (Tomado de Guyton y Hall, 1996).

Para los propósitos de este trabajo, conviene hacer mención de algunas de las características más importantes de los receptores sensoriales y de las vías conductoras, que están formadas principalmente por los nervios periféricos.

Todos los axones de los nervios periféricos están envueltos por un tipo de células gliales llamadas células de Schwann. Éstas son muy importantes, ya que forman la vaina de mielina de las fibras nerviosas mielinizadas. Gracias a su actividad, se distinguen dos grandes grupos de axones: los mielinizados y los no mielinizados.

## 11. Mielinización

El que la célula de Schwann forme o no una vaina de mielina, está determinado por el axón con el que se asocia. Se ha demostrado que el axón estimula a la célula de Schwann a formar la mielina, y que ésta es capaz de asociarse con igual facilidad tanto a los axones que serán mielinizados, como a aquellos que permanecerán sin mielinizarse (*op. cit.* 1991).

Además, la formación de la vaina de mielina y el número de capas de ésta, se hallan determinados por el diámetro del axón. Cabe señalar que la mielinización se inicia hasta que el axón alcanza un cierto diámetro mínimo y continúa durante el tiempo en que éste crece (Friede, 1972).

En el estado inicial de envainamiento, la célula de Schwann envuelve al axón, dejando un canal (mesaxón) abierto al espacio extracelular. Después, una prolongación del citoplasma de la célula de Schwann se extiende en espiral alrededor del axón, y finalmente, la compactación de las membranas de las células de Schwann, ocurre cuando el citoplasma se expulsa fuera de la porción internodal y permanece como un collar externo que contiene el núcleo de la célula (figura 4; *op. cit.* 1991).

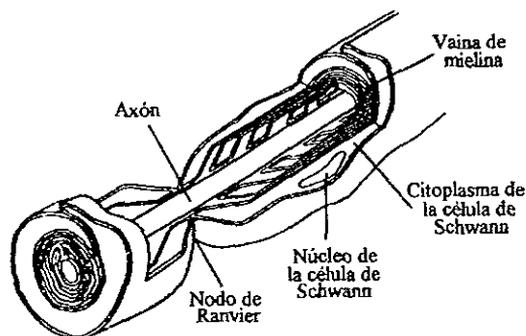


Figura 4. Esquema de un axón mielinizado en sección longitudinal. Puede apreciarse un segmento no mielinizado o nodo de Ranvier y la disposición de la célula de Schwann al enrollarse para formar las lamelas que integran a la vaina de mielina (Guyton y Hall, 1996).

La membrana de las fibras que serán mielinizadas (axolema) se encuentra regionalizada, pues el axolema nodal exhibe características diferentes a las del axolema internodal (Waxman y Foster, 1980). Debido a esto, el axón mielinizado se divide en dos porciones (figura 4):

- 1) **Porciones Internodales**, en las que se encuentra la mielina, y
- 2) **Porciones Nodales** (o nodos de Ranvier), que constituyen las zonas en las que no se ha formado esta sustancia.

La mielina es una de las sustancias más complejas de la naturaleza, está compuesta principalmente por lípidos y proteínas, y se estima que su contenido de agua es de alrededor de 40% (tabla 3). La mielina es un excelente aislante, permite la propagación saltatoria de los potenciales de acción, debido a que la corriente iónica no puede fluir a través de ella y se propaga únicamente de nodo a nodo (Rogart y Ritchie, 1977).

<b>LÍPIDOS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* <b>Fosfolípidos</b> (fosfatidil-etanolamina y fosfatidil-colina: lecitina)</li> <li>* <b>Glicolípidos</b> (esfingomielina, cerebrósidos y gangliósidos)</li> <li>* <b>Esteroles</b> (principalmente colesterol)</li> </ul>
<b>PROTEÍNAS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>* <b>Proteína P<sub>0</sub></b> (la proteína principal, una glicoproteína)</li> <li>* <b>PBM</b> (Proteína básica de la mielina, con 2 fracciones: P<sub>1</sub>, idéntica a la proteína básica del SNC, y P<sub>2</sub>)</li> <li>* <b>CNP</b> (2',3'- nucleótido cíclico 3'-fosfohidrolasa)</li> <li>* <b>GAM</b> (glicoproteína asociada a la mielina)</li> </ul>

Tabla 3. Composición de la mielina periférica de un mamífero (Tomado de Jacobson, 1991).

La conducción saltatoria que ocurre en las fibras mielinizadas presenta grandes ventajas con respecto a la propagación en los axones no mielinizados, debido a que existe un enorme incremento en la velocidad de conducción, con una marcada economía en el tamaño del axón y en el consumo de energía (Wiggins, 1982). Esto último, gracias a que se requiere de un metabolismo menos activo para restablecer las diferencias de concentración iónica que se producen en la membrana después de una serie de impulsos nerviosos (*op. cit.* 1996).

## 12. Tipos de fibras nerviosas

La velocidad de conducción en las fibras nerviosas varía desde 0.5 metros por segundo (m/s) en las fibras no mielinizadas más delgadas, hasta 120 m/s en las fibras mielinizadas

gruesas, y constituye uno de los parámetros que se utilizan para clasificar a los axones. Otros factores a considerar son la presencia o ausencia de mielina, su umbral de excitación (que varía en función inversa a su diámetro) y el tipo de información que transmiten.

Tipo de fibra	Presencia de mielina	Diámetro (µm)	Velocidad de conducción (m/s)	Duración del PA (ms)	Transmisión de Información:
A $\alpha$	Fibras mielinizadas	13 - 22	70 - 120	0.4 - 0.5	De propioceptores musculares, de los receptores del pelo, de vibración y de tacto de gran discriminación
A $\beta$	Fibras mielinizadas	8 - 13	40 - 80	0.4 - 0.6	De propioceptores musculares, de los receptores del pelo, de vibración, de tacto de gran discriminación y de tacto y presión profundos
A $\gamma$	Fibras mielinizadas	4 - 8	18 - 50	0.5 - 0.7	De propioceptores musculares, de los receptores del pelo, de vibración, de tacto de gran discriminación, de tacto y presión profundos y de dolor punzante
A $\delta$	Fibras mielinizadas	1 - 4	5 - 30	0.6 - 1.0	De los receptores del pelo, de tacto y presión profundos, de dolor punzante y de frío y calor.
C	Fibras no mielinizadas	0.5 - 1	0.5 - 2.0	2.0	De tacto y presión rudos, de picor y cosquilleo, de dolor sordo y continuo, de frío y calor.

**Tabla 4.** Clasificación de las fibras nerviosas. La jerarquía de las fibras A está determinada por su diámetro: las fibras A $\alpha$  son las más gruesas y las A $\delta$  las más finas (Compilada de Willis y Coggeshall, 1978; Stein, 1980; Guyton y Hall, 1996).

Como puede observarse en la tabla 4, el grupo de fibras A es muy heterogéneo, pues en él se encuentran axones que transmiten información táctil, térmica o dolorosa; con

velocidades de conducción que van de los 5 a los 120 metros por segundo; y con diámetro grueso o fino (lo que determina que tengan umbrales de activación distintos). La única característica que comparten es que todas están mielinizadas.

Por su parte, las **fibras C** tienen una velocidad de conducción que va de 0.5 a 2 metros por segundo, no poseen mielina y su diámetro es muy fino, por lo que tienen un gran umbral de activación. Su función es transmitir información relacionada con el dolor.

Cuando se estimula eléctricamente a las fibras nerviosas que constituyen un nervio, se produce una señal denominada Potencial de Acción Compuesto (PAC).

### 13. Potencial de Acción Compuesto

El Potencial de Acción Compuesto es una señal integrada por los impulsos nerviosos generados en los axones de un nervio (figura 5). A diferencia del potencial de acción, el PAC es de *amplitud variable*, pues depende de la cantidad y tipo de axones activados por un determinado estímulo. A medida que se incrementa la intensidad del estímulo, puede alcanzarse el umbral de más fibras nerviosas, hasta que todos los axones de un diámetro determinado son activados y se llega a la *amplitud máxima del PAC* (op. cit. 1981).

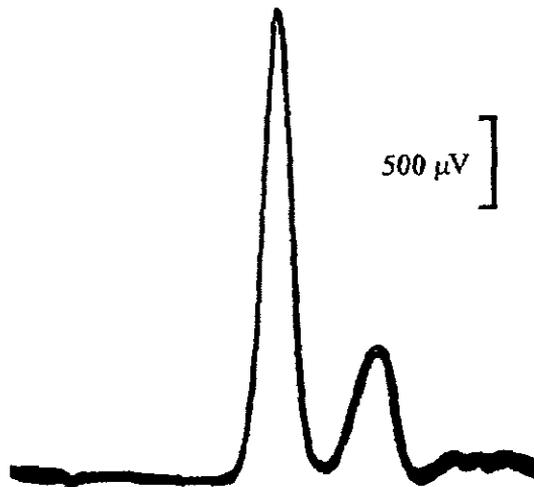


Figura 5. Registro de un Potencial de Acción Compuesto (PAC) del nervio peroneo de rana. Pueden distinguirse picos de dos grupos de fibras A con diferentes amplitudes, latencias y velocidades de conducción (Modificado de Junge, 1981).

Desde el punto de vista eléctrico, el PAC está constituido por la suma de los cambios de potencial entre los electrodos de estimulación y registro. Cada fibra en el nervio genera una corriente extracelular dependiente de las características eléctricas de la membrana (resistencia y capacitancia) y de la densidad de los canales iónicos y sus corrientes activas. Esta corriente, que fluye entre los dos electrodos, también está influenciada por las propiedades resistivas y de capacitancia de todo el nervio, la posición de las fibras particulares en el haz de fibras, y la posición y cantidad de tejido conjuntivo aislante (perineurio) (Benzon *et al.*, 1988).

Las fibras de diferente velocidad de conducción liberan su corriente hacia los electrodos de registro en tiempos diferentes, y el PAC suma esas señales para tener un potencial neto de todas las fibras individuales (*Idem*). En consecuencia, el PAC presenta varios componentes o picos de latencia distinta, cada uno de ellos generado por un tipo particular de fibras; como se observa en la figura 5, en la que el componente de mayor amplitud pertenece a las fibras  $A\alpha$ , con velocidades de conducción de 70 a 120 m/s, mientras que el componente de mayor latencia de aparición, corresponde a los axones  $A\beta$ , que transmiten información relacionada con el tacto, la presión y los receptores del pelo a una velocidad de 40 a 80 metros por segundo.

## ANTECEDENTES

Los efectos de la desnutrición sobre el desarrollo del Sistema Nervioso han sido extensamente estudiados mediante técnicas químicas y morfológicas, que han permitido establecer que el daño no sólo depende de la severidad y duración del período de desnutrición, sino también de la madurez del tejido nervioso en el momento en el que se inicia la privación alimenticia (Krigman y Hogan, 1976).

La mayoría de las investigaciones se enfocan al Sistema Nervioso Central, pues se ha demostrado que la desnutrición reduce el número de neuronas, altera la formación de circuitos neuronales y modifica los procesos de proliferación, migración y diferenciación de las células gliales, retardando o impidiendo el proceso de mielinización. Todo esto provoca alteraciones en la locomoción y en la conducta (especialmente cognitiva) de los organismos (Gramsbergen y Westerga, 1992; Morgane *et al.*, 1993).

En estudios más específicos, se ha señalado que el crecimiento de la corteza cerebral de ratas sometidas a desnutrición neonatal, es severamente retardado cuando ésta ocurre durante los primeros 10 días de vida postnatal. Estas ratas presentan una diferenciación muy pobre de los organelos neuronales y un decremento en la proliferación de axones y dendritas, lo cual altera permanentemente la morfología y función de sus neuronas (Bass *et al.*, 1970).

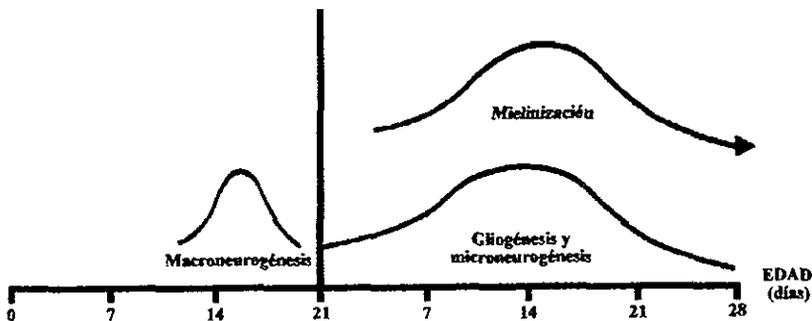


Figura 6. Principales eventos del desarrollo cerebral de la rata durante los períodos prenatal y postnatal. La flecha sobre la mielinización indica que en algunas áreas del cerebro ésta continúa aún después de los 28 días de edad postnatal (Modificado de Morgane *et al.*, 1992).

De acuerdo a otras investigaciones, se sabe que el Sistema Nervioso Central es especialmente vulnerable a la desnutrición cuando se encuentra en el período de mielinización (figura 6). Se ha propuesto que la desnutrición reduce la proliferación de oligodendrocitos y la cantidad de mielina que sintetizan estas células (Wiggins, 1982), aunque parece no haber diferencias entre la composición química de la mielina de ratas desnutridas y la de ratas bien alimentadas (*op. cit.* 1976).

Por otra parte, Hedley-White y Meuser (1971) señalan que existen diferencias de sensibilidad a la desnutrición entre los tejidos periférico y central. Según estos autores, las diferencias pueden estar relacionadas con las divergencias que existen en el inicio de la fase de mielinización rápida, o con el intervalo en el que los organismos son sometidos a la privación nutricional.

A pesar de tener presentes estas diferencias, sólo se ha realizado un número muy limitado de investigaciones en torno a la relación entre desnutrición y Sistema Nervioso Periférico. Esos estudios muestran los efectos de la privación alimenticia sobre los nervios periféricos (especialmente el nervio ciático de rata) y consideran las principales características que alteran el funcionamiento de un axón, tales como el grosor de la vaina de mielina y el diámetro de la fibra nerviosa.

Según Hedley-White y Meuser (1971), la privación alimenticia severa impuesta durante los primeros días de vida postnatal de la rata, afecta de manera más importante la depositación de mielina que el grosor del nervio ciático de ratas desnutridas. Esta afirmación se apoya en la observación de que después de cinco, ocho o doce días de desnutrición parcial, el nervio ciático de ratas desnutridas, posee una vaina de mielina más delgada que la de los animales control.

Estos efectos pueden explicarse si se considera que la proliferación de las células de Schwann y el inicio de la mielinización, ocurren durante la vida fetal tardía y el período temprano de lactancia. Si las ratas son sometidas a una privación alimenticia durante esta etapa, se afecta tanto a las células de Schwann como al proceso de mielinización, pues es bien

sabido que la proliferación celular activa es muy vulnerable en períodos de desnutrición (*op. cit.* 1971).

Sima (1974a) hace un seguimiento del estudio anterior, y propone que la reducción de la vaina de mielina puede ser el resultado de la suma de las alteraciones que ocasiona la desnutrición, en las raíces dorsales y ventrales que se mezclan en el nervio ciático de la rata.

El mismo autor muestra -basándose en técnicas histológicas-, que la privación nutricional durante la vida postnatal temprana causa una reducción del crecimiento del diámetro axonal en el nervio ciático, y en las raíces dorsal y ventral del segmento lumbar 5 de la médula espinal (que es el segmento del que parte el ciático). El retardo en el crecimiento del diámetro axonal del ciático es más marcado en las fibras gruesas que en las fibras finas de ratas desnutridas. En cuanto al número de fibras mielinizadas, *no existen diferencias significativas* entre ratas control y desnutridas (Sima, 1974a).

Sima muestra que la heterogeneidad funcional del nervio ciático (motora y sensorial) exige un estudio más amplio en las raíces dorsales y ventrales, por lo que, en una investigación posterior (Sima, 1974b) experimenta con ratas de 90 días sometidas a una privación alimenticia durante las etapas de gestación y lactancia (desnutrición perinatal). En este estudio se detectan efectos de retardo en la depositación de mielina en las raíces dorsal y ventral, y se observa que la recuperación del diámetro axonal (después de instaurar una realimentación a partir del nacimiento) es casi completa en la raíz ventral, en tanto que el cambio producido en las fibras nerviosas de la raíz dorsal es irreversible. Además, el depósito de mielina y el diámetro axonal fueron afectados proporcionalmente por la desnutrición, pero en la raíz ventral la depositación de mielina es más afectada que el diámetro axonal (*op. cit.* 1974b).

Este efecto diferencial puede ser debido a que el período de multiplicación de las células de Schwann en la raíz dorsal sea más prolongado que en la raíz ventral, o porque el crecimiento del diámetro axonal ocurre en una proporción más lenta en las raíces dorsales que en las ventrales. Sima propone que la proporción de actividad mitótica podría no ser afectada por la desnutrición en las raíces ventrales, como fue asumido por Hedley-White y Meuser.

Por otro lado, Waxman y Foster (1980) mediante estudios citoquímicos, establecen que la mielinización de las raíces espinales de la rata comienza alrededor del día 17 de vida fetal y continúa por algunas semanas más. De acuerdo a estos autores, las regiones nodales (con alta densidad de canales de sodio dependientes de voltaje) se diferencian antes del término de la mielinización, pues el marcaje de regiones de especialización nodal es independiente de la formación de mielina compacta o bien definida en las zonas paranodales. De hecho, parece ser que la diferenciación del axolema en regiones nodales especializadas precede al desarrollo de vainas de mielina maduras.

En las revisiones más recientes (Jacobson, 1991), se considera que debido a que la mielinización involucra una serie de actividades proliferativas y sintéticas de las células de Schwann en coordinación con el axón nervioso, las anomalías en el desarrollo de la mielina podrían ser inducidas por una extensa variedad de disturbios en la proliferación y motilidad de las células mielinizantes, defectos en el envainamiento de los axones, o deficiencias en enzimas o sustratos requeridos para la síntesis de mielina. Algunos de estos disturbios podrían estar ocasionados por la desnutrición.

Finalmente, cabe señalar que el nervio sural (unidad experimental del diseño de la presente tesis) ha sido utilizado en estudios clínicos y experimentales del Sistema Nervioso Periférico con la implicación de que está constituido, tanto en animales como en humanos, de fibras sensoriales mielinizadas y axones autónomos no mielinizados. Sin embargo, existen datos electrofisiológicos e histológicos (Nakanishi y Norris, 1970; Harrison, 1975; Peyronnard y Charron, 1982 y Handwerker *et al.*, 1991) que sugieren la presencia de fibras motoras que surgen de los segmentos espinales lumbares L2 a L6 de la rata (las neuronas sensoriales del sural están localizadas en su mayoría en los ganglios L4 y L5) y que alcanzan los músculos plantares de la pata, vía una anastomosis entre el nervio sural y el nervio plantar lateral.

# JUSTIFICACIÓN

En los numerosos estudios realizados para comprender la relación entre la desnutrición y el Sistema Nervioso Central, se ha puesto de manifiesto que a pesar de que el tejido nervioso es de los más protegidos durante la desnutrición (las estructuras que sufren más daño son: hígado, intestinos y tejido muscular), también puede experimentar alteraciones. Se sabe que algunos de los eventos que ocurren durante el desarrollo del Sistema Nervioso Central, tales como la migración, la diferenciación y la proliferación neuronales, no sólo son retardados por la desnutrición, sino que se interrumpen o se hacen aberrantes (Morgane *et al.*, 1992 y 1993).

Sin embargo, existen pocas referencias de estudios que analicen los efectos del aporte insuficiente de nutrientes en el Sistema Nervioso Periférico, y menos aún, en relación a las respuestas electrofisiológicas generadas en los axones de nervios cutáneos. Por ello el presente estudio se orientó hacia los siguientes objetivos.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- ❖ Determinar el efecto que produce una deficiencia alimentaria perinatal (gestacional y postnatal temprana) sobre las características del Potencial de Acción Compuesto (PAC) del nervio sural de ratas en desarrollo.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Verificar la utilidad del método de desnutrición empleado para producir organismos desnutridos, a partir de la comparación del peso de los animales control y desnutridos.

- ❖ Realizar registros electrofisiológicos del PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas de diferentes edades postnatales (8, 12, 16, 18 y 30 días).
  
- ❖ Caracterizar el PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas de las edades mencionadas a través de la determinación de su:
  - a) Amplitud máxima
  - b) Área máxima,
  - c) Duración,
  - d) Umbral de activación eléctrica,
  - e) Velocidad de conducción,
  - f) *Periodo refractario poblacional absoluto,*
  - g) Amplitud a diferentes intensidades de estimulación,
  - h) Umbral a diferentes duraciones del estímulo, y
  - i) Cronaxia y reobase.
  
- ❖ Describir el comportamiento de los componentes del PAC del nervio sural, durante el desarrollo postnatal temprano de ratas control y desnutridas.

# METODOLOGÍA

## 1. Animales y condiciones ambientales.

En la realización de la presente tesis, se utilizaron 84 crías de rata albina de la variedad Wistar, que fueron mantenidas con sus madres (hasta el destete: día 21 postnatal) en cajas de plástico con aserrín estéril, a temperatura y humedad ambientes, en un cuarto iluminado 12 horas al día en promedio.

## 2. Tratamientos experimentales

Las crías se obtuvieron a través de 4 cruzas por harem (o poligámicas), en las que tres ratas hembra de entre 200 y 250 gramos, permanecieron durante una semana con un macho de entre 300 y 350 gramos de peso. Una vez efectuada la cruce (verificada por la presencia del tapón seminal en la vagina de las hembras), las 12 ratas preñadas que se obtuvieron, se colocaron en jaulas individuales y se dividieron en 2 lotes de 6 ratas cada uno: el lote de ratas control y el lote de ratas desnutridas. En ambos lotes, el número de crías se ajustó a 8 por camada desde el día de su nacimiento.

En los experimentos se utilizaron crías control y desnutridas de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal, a las que se aplicaron los tratamientos que se consideran a continuación.

## 3. Dieta del grupo control

El grupo de 6 ratas madre y 40 crías control (en total), se alimentó con Formulab 5008 de Lab Diet y agua *ad libitum* durante todo el período de experimentación.

## 4. Dieta del grupo sujeto a desnutrición

Al grupo de 6 ratas madre y 44 crías desnutridas se le administró agua *ad libitum* y se le aplicó la técnica de desnutrición que describieron Chow y Lee en 1964. Esta técnica implica desnutrición pre y postnatal a través de la disminución del 50% de la cantidad de alimento que consume una madre control. La restricción nutricional fue iniciada desde el primer día de gestación y mantenida durante todo el embarazo y la lactancia. Después del destete, las crías desnutridas fueron sujetas a una restricción del 50% de la cantidad de alimento que consumían las ratas control de la misma edad. La cantidad de alimento que se proporcionó a las ratas madres desnutridas se resume en la tabla 5.

PERIODO DE DESARROLLO	CANTIDAD DE ALIMENTO (g/día)
1a. semana de gestación	13
2a. semana de gestación	16
3a. semana de gestación	20
Lactancia	20-25

Tabla 5. Relación de la cantidad de alimento que se administró a las ratas sometidas al aporte insuficiente de nutrientes, de acuerdo al período de desarrollo de las crías.

### 5. Montaje de la preparación experimental

Cuando las crías de ambos lotes alcanzaron las edades de 8, 12, 16, 18 o 30 días, se llevó a cabo el registro del Potencial de Acción Compuesto (PAC) del nervio sural de acuerdo al siguiente método.

Cada rata se pesó y anestesió con hidrato de cloral al 6% (400 mg/kg); y posteriormente, en la región dorsal de cada extremidad posterior, se efectuaron los cortes de piel y músculo necesarios para diseccionar el nervio sural (figura 7).

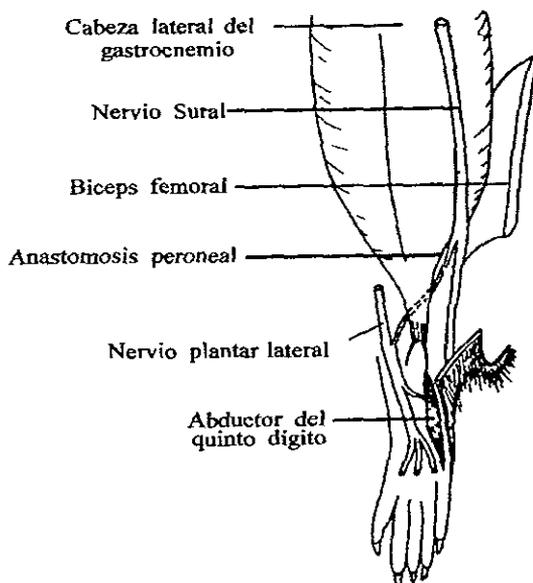


Figura 7. Localización del nervio sural en la extremidad posterior derecha de rata, se observan además los músculos y los nervios que lo circundan (Peyronnard y Charron, 1982).

El nervio sural fue extraído -utilizando disectores de vidrio- y colocado en una cámara de registro llena de solución Krebs precalentada a 37°C (NaCl 128mM, KCl 3mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

0.5mM,  $\text{CaCl}_2$  1.5mM,  $\text{MgSO}_4$  1mM,  $\text{NaHCO}_3$  21mM y glucosa 30mM en agua desionizada; pH=7.45).

Un extremo del nervio se introduce en un electrodo de registro, y el otro extremo en un electrodo de estimulación. Para que el nervio quedara sujeto a los electrodos, se succionó suavemente con jeringas conectadas a éstos (figura 8). Los electrodos de estimulación y registro fueron elaborados de acuerdo a Stys, 1993 (Apéndice IV).

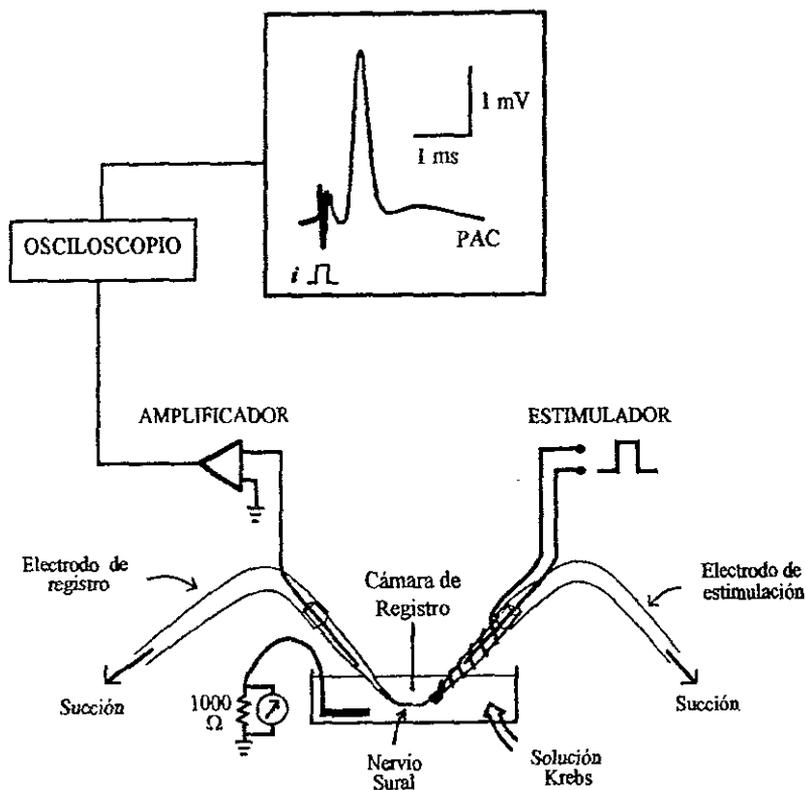


Figura 8. Representación esquemática de la cámara de registro y las conexiones entre los microelectrodos de succión y los aparatos de estimulación y amplificación utilizados para registrar el Potencial de Acción Compuesto (PAC).

## 6. Obtención de los registros electrofisiológicos (PAC's)

El nervio sural fue estimulado con pulsos de 0.05 milisegundos de duración y de intensidad de 0.01 a 1 miliamperio (estimulador Digitimer DS2). La señal captada se amplificó

de 1000 a 5000 veces (amplificador de C.A., Grass p711) y se registró en un osciloscopio (Gould DSO 1624) conectado a una grabadora de video (Sony), en la que se almacenaron todas las señales obtenidas.

En cada experimento, se determinó el umbral de activación eléctrica de las fibras que generaron el PAC; y posteriormente se aplicaron pulsos de corriente a los que se les incrementó gradualmente la intensidad hasta encontrar la respuesta máxima del nervio. La intensidad de estimulación empleada en cada pulso fue determinada mediante la caída de voltaje que se observó en una resistencia eléctrica ( $1000 \Omega$ ,  $\pm 1\%$  de tolerancia) colocada en serie en el regreso a tierra del registro.

A continuación se aplicaron dos estímulos sucesivos con el fin de encontrar el período refractario poblacional absoluto, que se estableció cuando el segundo estímulo no generó otro PAC.

Al finalizar cada experimento, se buscó el umbral de las fibras a diferentes duraciones del estímulo (0.05, 0.1, 0.2, 0.5 y 1 ms), con lo que se construyeron las curvas intensidad-duración para cada edad y tratamiento, y se midió la longitud del nervio sural.

## 7. Análisis de los PAC's.

Los registros del PAC almacenados en las cintas de video se promediaron y analizaron mediante un programa de computadora elaborado especialmente para ello (PROSIN). Posteriormente se valoraron los parámetros que se mencionan a continuación:

\* **Amplitud.** Es la magnitud de la respuesta que alcanza el pico del PAC, y depende del número de fibras nerviosas que se activan a un tiempo determinado.

\* **Latencias inicial y al pico.** Proporcionan información acerca del tiempo que tardan en activarse las fibras nerviosas. La latencia inicial es el tiempo que pasa desde que se aplica el estímulo hasta que se inicia el PAC, y la latencia al pico es el intervalo que existe desde la aplicación del estímulo hasta que el PAC alcanza su mayor amplitud.

\* **Área.** Señala la densidad poblacional de axones que se activan después de recibir un estímulo determinado. Es la integral bajo la curva del PAC y se obtuvo al multiplicar la diferencia entre la latencia al pico y la latencia inicial por la amplitud ( $A = (L_p - L_i)a$ ).

\* **Duración.** Es la anchura del PAC y se obtuvo de la diferencia entre la latencia al pico y la latencia inicial multiplicada por dos.

\* **Umbral eléctrico.** Es la intensidad mínima de corriente eléctrica necesaria para activar las fibras nerviosas más excitables.

\* **Velocidad de conducción.** Depende del grado de mielinización de las fibras nerviosas. Se calculó dividiendo la longitud del nervio entre la latencia inicial.

\* **Período refractario poblacional absoluto.** Es el intervalo de tiempo posterior a la generación de un PAC, en el que no puede producirse otro PAC aún cuando la intensidad de estimulación sea muy alta. Se determinó mediante la aplicación de dos estímulos sucesivos, cuya intensidad fue supramáxima para provocar el PAC. El intervalo entre ambos estímulos fue reduciéndose gradualmente hasta que el segundo estímulo no era capaz de generar el PAC, y se midió entonces el tiempo transcurrido entre el artefacto del estímulo del primer PAC y el del segundo. Este intervalo fue considerado como el período refractario poblacional absoluto.

Con los resultados obtenidos se elaboraron tablas de datos y gráficas relativas al peso corporal, amplitud, área, duración, umbral, velocidad de conducción, período refractario poblacional absoluto, amplitud a diferentes intensidades de estimulación y umbral a diferente duración del estímulo (curvas intensidad-duración).

## **8. Análisis Estadístico.**

Se utilizó un número muestral de 10 repeticiones para cada uno de los parámetros mencionados previamente (excepto peso), en cada edad (8, 12, 16, 18 y 30 días) de cada tratamiento (control y desnutrido). Con estas repeticiones se calcularon la media y el error estándar y se verificó la normalidad de los datos a través de gráficas de probabilidad normal (elaboradas en Jandel Sigma Plot, versión 3.0).

La comparación entre los datos del PAC de nervios control y desnutridos de diferentes edades se realizó mediante la prueba *t* de Student (GraphPad InStat tm, versión 2.03) de dos colas no pareada, en la que se consideraron los siguientes niveles de significancia: 0.05 (significativo), 0.01 (muy significativo) y 0.001 (extremadamente significativo).

# RESULTADOS

## 1. Efecto de la desnutrición sobre el peso corporal

En el presente estudio se reportan los resultados correspondientes a los registros electrofisiológicos *in vitro* de 100 nervios. Se consideraron 10 nervios para cada edad (8, 12, 16, 18 y 30 días) de cada tratamiento (control y desnutrido).

Cabe señalar que algunos de los animales utilizados no se incluyen en esta serie de resultados, debido a que en el lote de ratas desnutridas se presentaron efectos diferenciales de desnutrición, es decir, se obtuvo un grupo de ratas "desnutridas" cuyo peso era muy parecido al grupo control, y otro grupo con un peso corporal decrementado por lo menos en un 40%. Este efecto diferencial puede ser debido a la existencia de predominancia o de jerarquías en las crías de las ratas, lo que provocaría que las ratas desnutridas "dominantes" se alimentaran durante periodos más prolongados que las ratas desnutridas "subordinadas", y en consecuencia, las subordinadas experimentarían una desnutrición más marcada. Sin embargo, cabe señalar que no se ha establecido que las jerarquías existan desde edades tempranas en las ratas (Austin, 1982).

De acuerdo a lo anterior, fue el grupo de animales desnutridos con mayor decremento en peso (46 a 73%) el que se utilizó para realizar las comparaciones estadísticas con el grupo control (los valores promedio y el error estándar del peso de las ratas, y de los parámetros del PAC como son amplitud, área, duración, umbral, velocidad de conducción, período refractario poblacional absoluto, y los datos de las curvas intensidad-duración y de las gráficas veces umbral contra amplitud, se muestran en el Apéndice II).

El peso corporal de las ratas sometidas a la desnutrición perinatal fue considerablemente menor que el de las ratas control en todas las edades de experimentación (figura 9). El porcentaje de decremento de peso tuvo una fluctuación del 44 al 73% (tabla 6), por lo que, si se considera únicamente el peso, de acuerdo a la clasificación de Gómez (1987), las ratas desnutridas experimentaron una desnutrición entre moderada (60 a 75% del peso normal) y severa (40% del peso normal).

EDAD (días)	PESO CONT (g)	PESO DESN (g)	% PÉRDIDA
8	20.4 ± 1.07 (n=9)	11.4 ± 0.50 (n=7)	44
12	26.3 ± 2.01 (n=9)	13.0 ± 0.95 (n=9)	51
16	41.5 ± 1.09 (n=7)	16.7 ± 1.08 (n=9)	60
18	52.3 ± 2.09 (n=9)	17.0 ± 0.92 (n=9)	67
30	110.7 ± 6.39 (n=6)	29.5 ± 2.45 (n=10)	73

Tabla 6. Peso corporal de las ratas control y desnutridas. Se muestra el porcentaje de pérdida de peso que sufren las ratas desnutridas (considerando el peso promedio control como el cien por ciento).

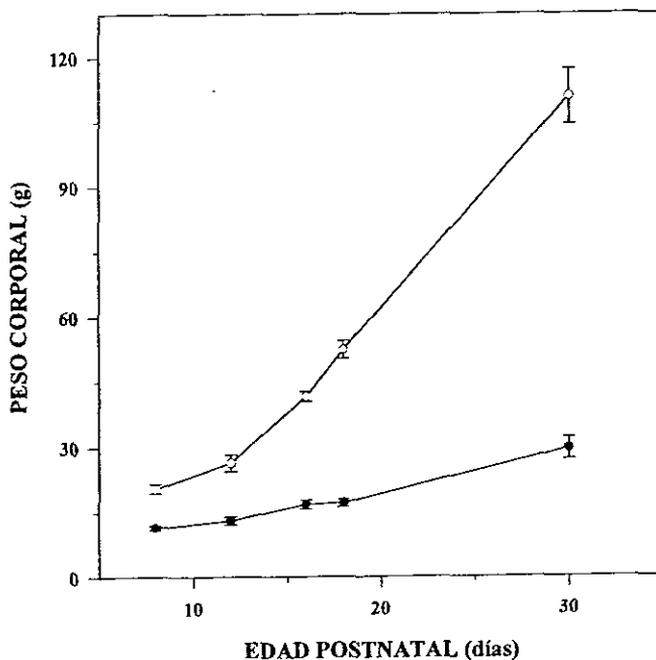


Figura 9. Peso corporal de ratas control (o) y desnutridas (●) de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad. Se muestra el promedio y el error estándar de 10 datos.

Estos resultados concuerdan con los reportados en otros estudios, en los que se han empleado diferentes variedades de ratas y diversos métodos de desnutrición (Sima, 1974 a y b; Morgane *et al.*, 1978; Segura, 1993).

Además, al igual que en la investigación efectuada por Gundappa y Desiraju (1988), las crías de las ratas desnutridas no sólo fueron más pequeñas que las control, sino que su desarrollo estuvo retardado. Esto fue aparente en características como el crecimiento del pelo, la apertura de los ojos y la exploración espontánea de la caja.

## **2. Registros electrofisiológicos del nervio sural**

El potencial de acción compuesto del nervio sural de ratas control y desnutridas estuvo integrado por dos componentes. El primer componente fue registrado al aplicar pulsos de estimulación de 0.1 a 10 voltios, con duración de 0.05 milisegundos; con estos estímulos se alcanzó el pico máximo del PAC a una intensidad de corriente de dos a tres veces la necesaria para activar a las fibras más excitables (2-3 veces umbral: 2-3xU) (figura 10.A). La latencia de aparición de este primer componente fue muy breve (de 0.1 a 0.5 ms en promedio) y presentó una amplitud variable entre los diferentes grupos de edad y de tratamiento (figura 11). Es probable que este componente resulte de la activación de fibras del grupo A en el nervio sural. Según la literatura (Willis y Coggeshall, 1978; Stein, 1980; Guyton y Hall, 1996), estas fibras tienen un diámetro de 1 a 22 micrometros, son mielinizadas y presentan una velocidad de conducción variable (entre 5 y 120 metros por segundo).

El segundo componente se generó al aplicar estímulos de 10 a 100 voltios, con una duración de entre 0.05 y 0.2 milisegundos. El pico máximo de este segundo componente fue generado con una intensidad de corriente hasta 30 veces umbral (30xU) (figura 10.B). Presentó una latencia de aparición tardía (de 15 a 28 milisegundos) y una amplitud considerablemente menor que la registrada para el primer componente. Al parecer, este segundo componente es generado por la activación de fibras del grupo C, las cuales poseen velocidades de conducción inferiores a las del grupo de fibras A (0.5 a 5 m/s), tienen diámetros pequeños (0.5 a 1  $\mu\text{m}$ ) y carecen de mielina.

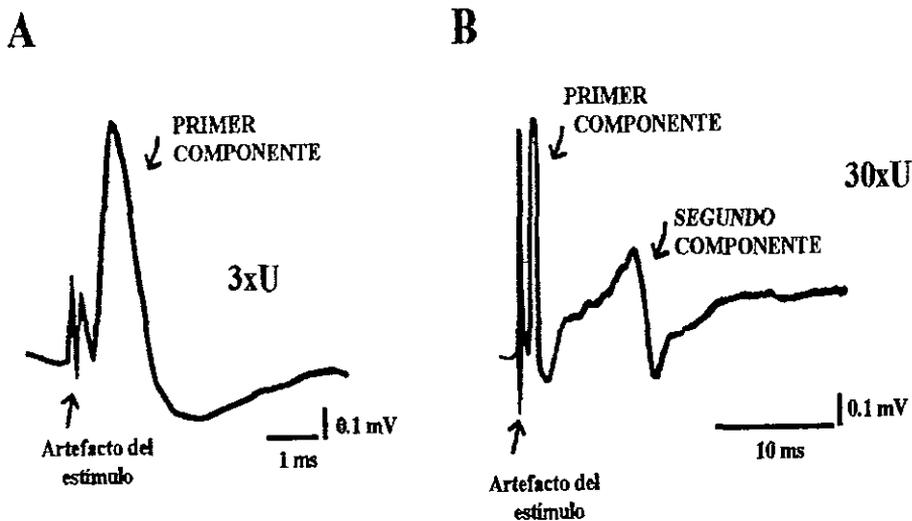


Figura 10. Registros del PAC del nervio sural de ratas control de 30 días de edad postnatal. (A) Primer componente generado por fibras del grupo A al aplicar un estímulo de 3 veces umbral (3xU). (B) Segundo componente correspondiente al grupo de fibras C, al estimular con una intensidad de 30 veces umbral (30xU).

En este trabajo sólo se consideran los valores promedio relacionados con el primer componente (generado por las fibras A), pues el segundo no aparecía en todos los nervios y no fue posible obtener un número de muestra estadísticamente válida.

En la figura 11 se muestran promedios representativos de los registros del potencial de acción compuesto del nervio sural de ratas control y desnutridas de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal. La forma tan característica de los PAC's resulta de cientos de impulsos nerviosos ocurriendo casi sincrónicamente, y cada uno de éstos es "todo o nada", pues sucede siempre en la misma forma estereotipada cuando el estímulo excede el umbral de excitación. La forma del PAC depende además, de la duración de los potenciales de acción en las fibras individuales y de la variación en su amplitud con el tamaño de la fibra (Boyd y Kalu, 1979).

Puede observarse que para cada grupo de edad, las señales que corresponden a los organismos desnutridos presentan una latencia de aparición más tardía, una mayor duración y una amplitud menor que las de los individuos control.

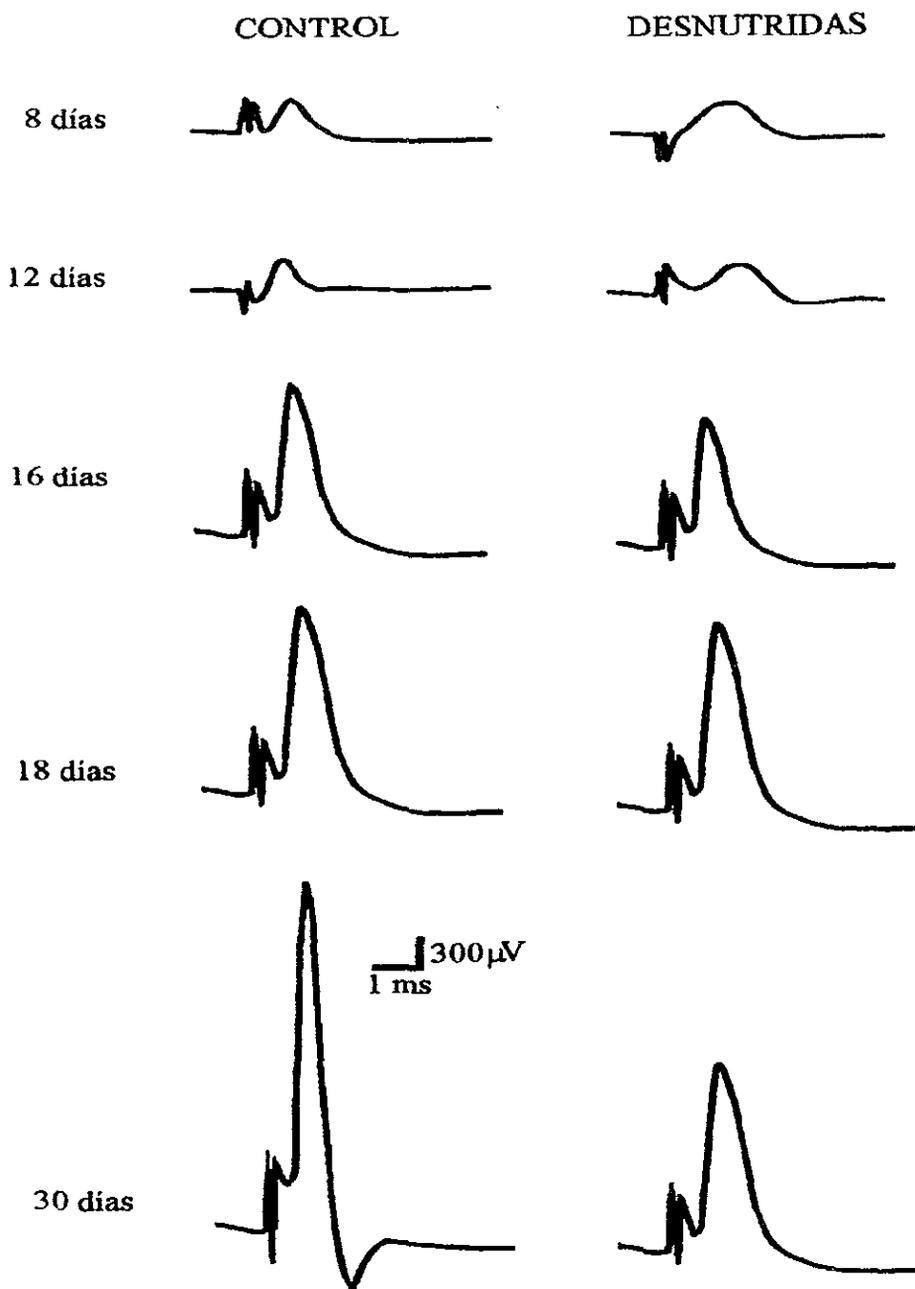


Figura 11. Registros del PAC. Se observan el artefacto del estímulo (2 a 3 veces umbral) y la respuesta que éste provoca en el nervio sural de ratas control y desnutridas de diferentes edades.

### 3. Efecto de la desnutrición sobre los parámetros del PAC

Con base en la medición de señales como las mostradas anteriormente, se construyeron las gráficas de los parámetros que permitieron caracterizar al PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas de diferentes edades postnatales. En la mayoría de las gráficas, y para cada uno de los parámetros, se aprecia un comportamiento similar en los grupos control y desnutrido, pues presentan una curva de crecimiento que va incrementando su valor con respecto a la edad (excepto umbral y período refractario poblacional absoluto).

**Amplitud máxima.** Tanto en los registros de la figura 11, como en la figura 12 puede observarse que la amplitud del PAC de ratas control y desnutridas generado por pulsos de intensidad 2-3xU, fue semejante entre los 8 y 18 días de edad postnatal (aunque ligeramente menor para las desnutridas). En cambio, a los 30 días la amplitud del PAC de los nervios de ratas desnutridas se reduce significativamente ( $t = 5.96$ ;  $P < 0.0001$ ; apéndice III) con respecto a la de las ratas bien alimentadas.

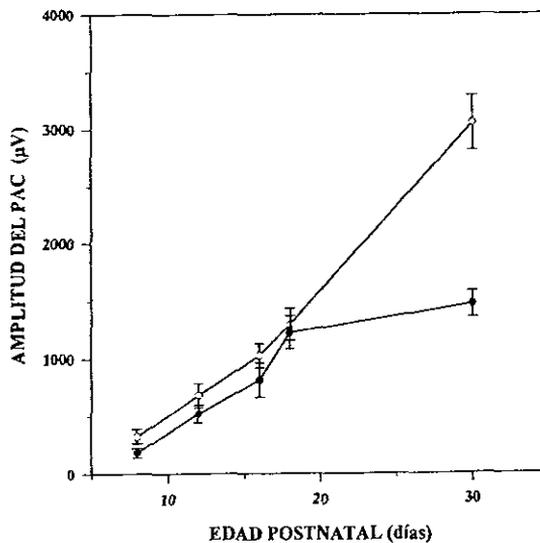
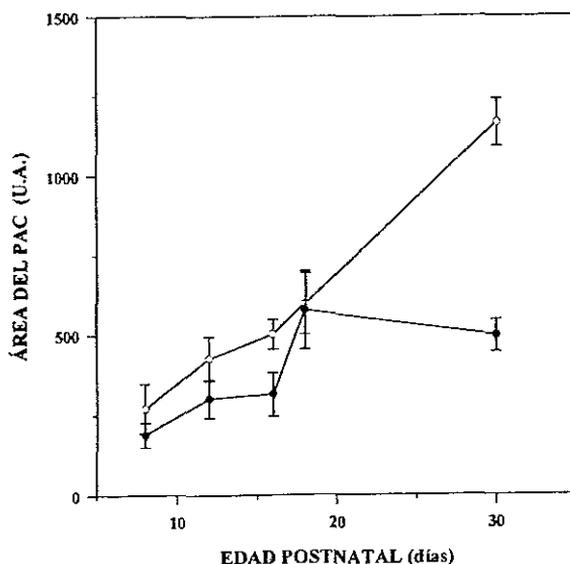


Figura 12. Amplitud del PAC del nervio sural de ratas control (o) y con deficiencia alimenticia (●) de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal. En cada símbolo se indica la media y el error estándar de 10 animales.

**Área máxima.** El área del PAC es una medida indirecta del número de fibras que son activadas por el estímulo en un momento dado. Como se muestra en la figura 13, la gráfica del área tuvo el mismo comportamiento que la de amplitud, ya que entre los 8 y 18 días postnatales, el área del PAC de los animales control y desnutridos no presenta diferencias estadísticamente significativas, mientras que a los 30 días el área del PAC de los nervios de ratas bien alimentadas fue significativamente mayor que la del grupo de ratas desnutridas ( $t$  7.55;  $P < 0.0001$ ; apéndice III).

Los datos de amplitud y de área permiten sugerir que a los 30 días de edad postnatal, el número de fibras activadas por un pulso eléctrico de intensidad entre 2 y 3 veces umbral, es menor en el nervio sural de animales desnutridos que en el de las ratas control.



**Figura 13.** Área del PAC evocado del nervio sural de ratas control (o) y desnutridas (●) de 5 edades postnatales. U.A.= Unidades arbitrarias ( $\mu\text{v}\cdot\text{ms}$ ).

**Duración.** A los 8 días el valor de duración del PAC de los nervios desnutridos es notoriamente mayor que el de los control, pero no se considera significativo (apéndice III; figura

14); posteriormente de los 12 a los 30 días, la duración del PAC es semejante para los grupos control y desnutrido. Este comportamiento hace suponer que la desnutrición impuesta al lote desnutrido no incide sobre la dispersión temporal de los impulsos nerviosos generados por las fibras A.

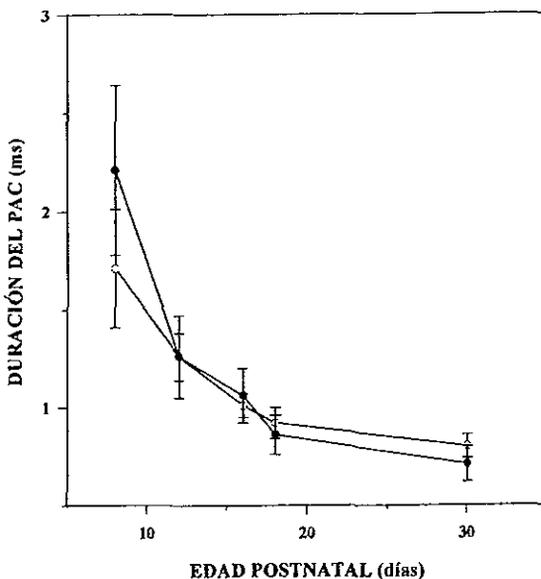


Figura 14. Duración del PAC registrado en el nervio sural de ratas control (o) y con desnutrición hipocalórica (●). Cada círculo representa el promedio y el error estándar de 10 datos.

**Umbral de activación eléctrica.** El valor del umbral de activación de los nervios de ratas desnutridas fue siempre más grande que el de los animales control, independientemente de la edad que se tratara. La intensidad mínima de corriente eléctrica necesaria para activar las fibras nerviosas más excitables del nervio sural de ratas desnutridas, fue significativamente mayor (apéndice III) que la de las ratas control de 8, 12 y 16 días (figura 15). En contraste, a los 18 y 30 días de edad no existen diferencias significativas en el umbral de activación de las fibras más excitables de ambos grupos de animales.

Esto podría explicarse si se considera que en edades postnatales tempranas, las fibras del nervio sural de las ratas desnutridas poseen un diámetro inferior al de los axones de los animales control.

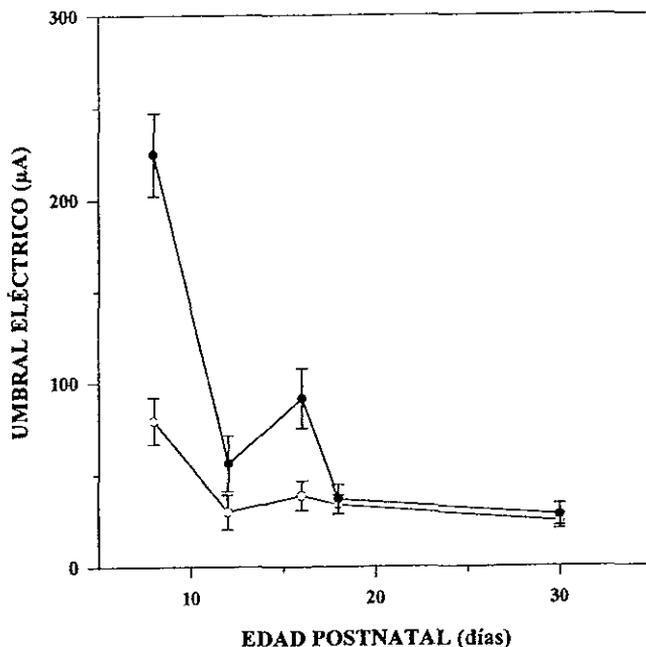
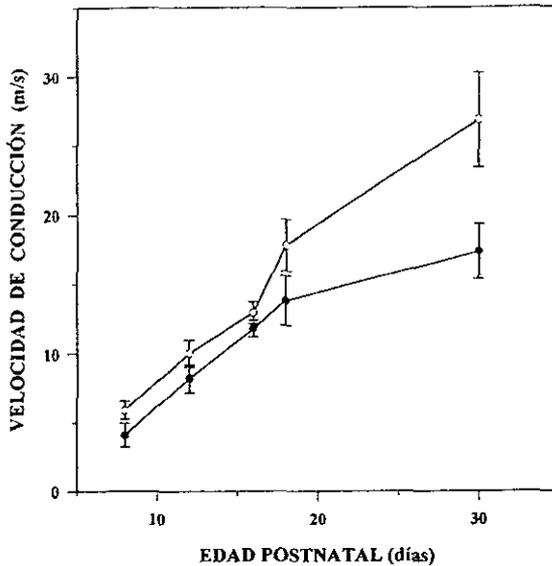


Figura 15. Umbral de activación de los axones más excitables del nervio sural de animales control (o) y desnutridos (●) de 5 edades postnatales.

**Velocidad de conducción.** La velocidad de conducción del impulso nervioso aumenta conforme a la edad tanto en ratas control como en desnutridas. Entre los 8 y 18 días de edad, la velocidad máxima de conducción del PAC no presenta diferencias significativas entre los grupos control y desnutrido, pero a los 30 días, los axones del nervio sural de las ratas control conducen el impulso nervioso a una velocidad significativamente mayor ( $t$  2.41;  $P < 0.0001$ ; apéndice III) que la de los nervios desnutridos (figura 16).



**Figura 16.** Velocidad de conducción de las fibras del nervio sural en sujetos control (○) y sometidos a deficiencia alimenticia (●) durante el período perinatal. En cada punto se muestra la media y el error estándar de 10 registros.

Estos resultados podrían estar relacionados con una diferencia en el proceso de mielinización de las fibras de los animales control y desnutridos reportados por varios autores (Sima, 1974 a y b; Wiggins, 1982), quienes sugieren que el diámetro y el número de lamelas de mielina de los axones, se reducen considerablemente durante la desnutrición.

La importancia del grado de mielinización de las fibras nerviosas se pone de manifiesto claramente durante el desarrollo postnatal: cuando la rata nace, la mayor parte de sus axones no están mielinizados, por lo cual la conducción de la corriente eléctrica es deficiente (Tapia, 1996), y a esto se debe la torpeza y falta de habilidad y coordinación motora que exhiben los animales control y desnutridos de edades tempranas.

**Período refractario poblacional absoluto.** En un nervio completo, la refractoriedad puede medirse al aplicar dos estímulos que ocurren cada vez más cercanos entre sí, con lo que

#### 4. Efecto de la desnutrición sobre la amplitud del PAC producido con diferentes intensidades de estimulación (Curvas veces umbral-amplitud)

Es bien sabido que la amplitud del PAC se incrementa conforme aumenta la intensidad del pulso de estimulación, debido a que paulatinamente se alcanza el umbral de excitación de más fibras nerviosas. Por ello y para establecer si la alimentación deficiente alteraba la activación de grupos de fibras de umbral diferente, se elaboraron las gráficas de n veces umbral contra amplitud del PAC para cada una de las edades postnatales consideradas (figuras 18 a 22).

En la mayoría de los experimentos, los nervios fueron estimulados hasta alcanzar una intensidad de 2 a 3 veces umbral y fue en este intervalo cuando alcanzaron su amplitud máxima.

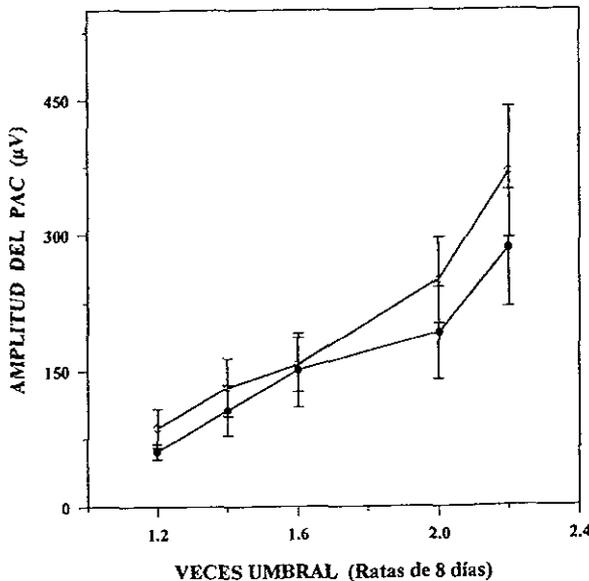


Figura 18. Relación entre la intensidad de estimulación (veces umbral) y el incremento en amplitud del PAC del nervio sural de ratas control (○) y desnutridas (●) de 8 días de edad postnatal. En cada punto se muestra el promedio y el error estándar de 10 registros.

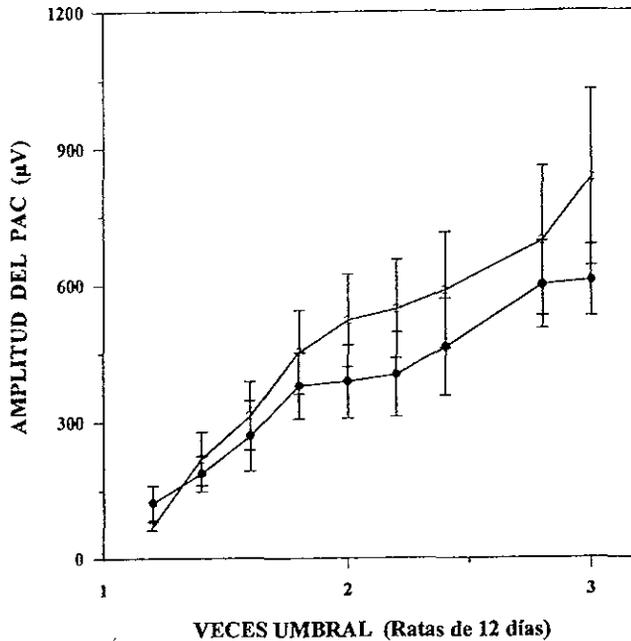


Figura 19. Relación entre la intensidad de estimulación (veces umbral) y el incremento en amplitud del PAC del nervio sural de ratas control (o) y desnutridas (●) de 12 días de edad postnatal.

Al graficar veces umbral contra amplitud, se obtuvieron curvas sigmoidales para los nervios control y desnutridos de todas las edades. Estos resultados fueron similares a los reportados para este tipo de curvas, por Ishikawa y colaboradores (1996) en potenciales generados en la médula espinal de gato. En ellas se reconocen 3 fases:

- ❖ Fase I. Las fibras de umbral más bajo responden al estímulo aplicado.
- ❖ Fase II. Existe un crecimiento más o menos exponencial en amplitud, pues cada vez que se aumenta el estímulo, son excitadas más y más fibras (esto es muy claro en las gráficas de cada nervio -que no se presentan-, pero en las gráficas promediadas, la estadística hace que el crecimiento exponencial no sea tan notorio).
- ❖ Fase III. La curva se hace asintótica: todas las fibras susceptibles de ser excitadas, lo han sido.

En las figuras 18 a 21 puede observarse que no existen diferencias significativas entre las ratas control y desnutridas de 8 a 18 días de edad postnatal, sin embargo, a los 30 días (figura 21) las curvas de amplitud de los nervios control y desnutridos comienzan con valores similares pero terminan separándose con diferencias estadísticamente significativas (apéndice III), lo cual está de acuerdo con nuestra gráfica de amplitud máxima (figura 12).

Esto podría sugerir que el método de desnutrición empleado no incide sobre los grupos de fibras de diferente umbral de ratas control y desnutridas de entre 8 y 18 días, mientras que sí afecta a las fibras de ratas desnutridas de 30 días.

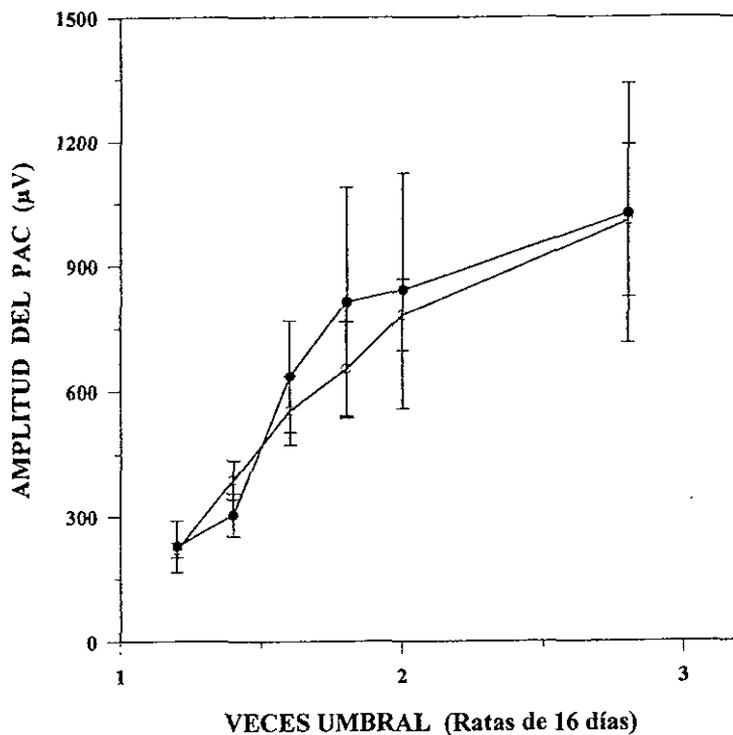


Figura 20. Relación entre la intensidad de estimulación (veces umbral) y el incremento en amplitud del PAC del nervio sural de ratas control (o) y desnutridas (●) de 16 días de edad postnatal.

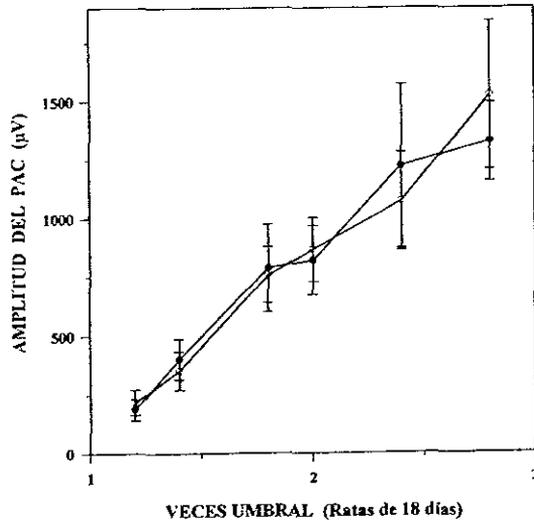


Figura 21. Relación entre la intensidad de estimulación (veces umbral) y el incremento en amplitud del PAC del nervio sural de ratas control (o) y desnutridas (●) de 18 días de edad postnatal.

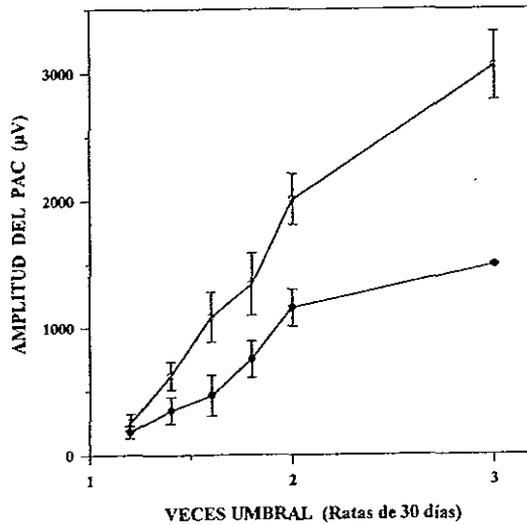


Figura 22. Relación entre la intensidad de estimulación (veces umbral) y el incremento en amplitud del PAC del nervio sural de ratas control (o) y desnutridas (●) de 30 días de edad postnatal.

## 5. Efecto de la desnutrición sobre las curvas intensidad-duración del PAC

Para establecer el posible efecto de la desnutrición sobre la cronaxia y la reobase del PAC generado en los nervios de ratas control y desnutridas, se determinaron los umbrales de generación del PAC ante diferentes duraciones del estímulo aplicado.

La reobase es la intensidad de corriente bajo la cual se provoca sólo una mínima respuesta del nervio, aún cuando los estímulos sean de muy larga duración; en tanto que la cronaxia es la duración mínima de un estímulo de intensidad 2 veces la reobase capaz de generar un PAC. Ambas son índices numéricos de la excitabilidad de las fibras (Ishikawa *et al.*, 1996).

En las figuras 23 a 27 se observa que conforme se incrementa la duración del estímulo, la corriente requerida para producir el PAC disminuye, tanto en los nervios de ratas control, como en los nervios de ratas desnutridas. Además existen diferencias significativas entre las curvas intensidad-duración de las ratas control y desnutridas, a las edades de 8, 12 y 16 días, lo cual está de acuerdo con la gráfica de umbral que se revisó antes (figura 15).

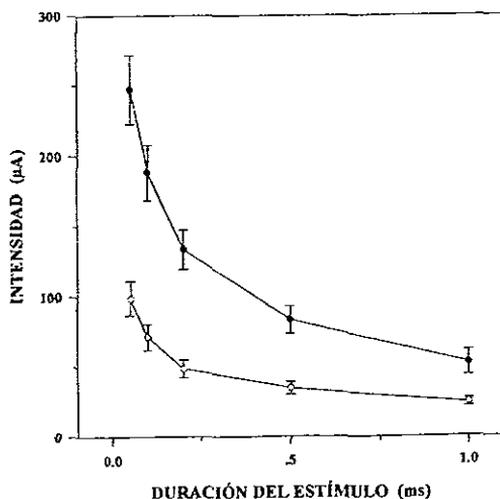


Figura 23. Curva intensidad umbral-duración del estímulo para el PAC del nervio sural de ratas control (◻) y desnutridas (●) de 8 días de edad postnatal.

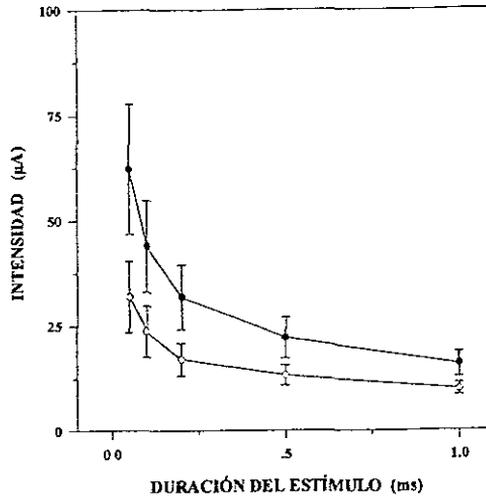


Figura 24. Curva intensidad umbral-duración del estímulo para el PAC del nervio sural de ratas control (o) y desnutridas (●) de 12 días de edad postnatal.

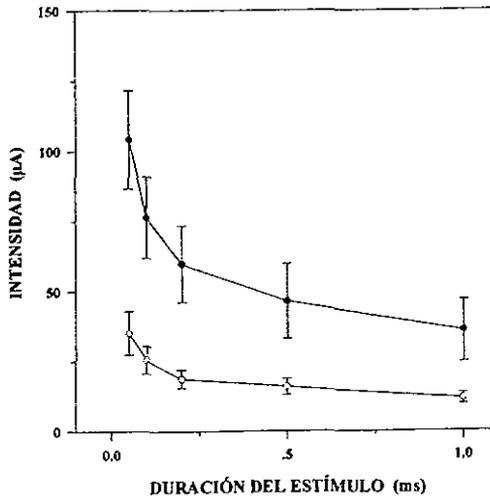


Figura 25. Curva intensidad umbral-duración del estímulo para el PAC del nervio sural de ratas control (o) y desnutridas (●) de 16 días de edad postnatal.

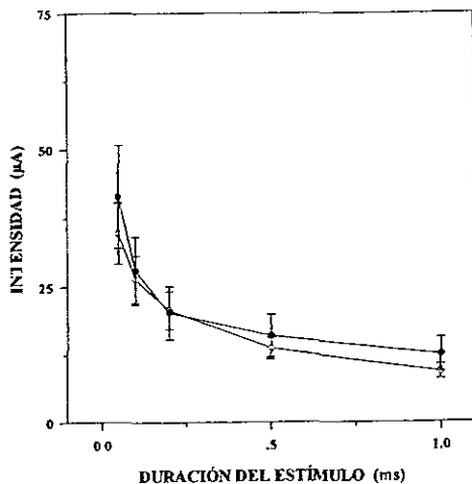


Figura 26. Curva intensidad umbral-duración del estímulo para el PAC del nervio sural de ratas control (o) y desnutridas (●) de 18 días de edad postnatal.

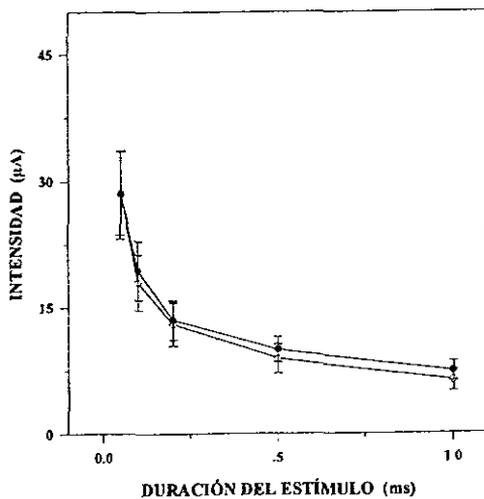


Figura 27. Curva intensidad umbral-duración del estímulo para el PAC del nervio sural de ratas control (o) y desnutridas (●) de 30 días de edad postnatal.

El tipo de relación que existe entre la duración del estímulo y la intensidad umbral de corriente que genera el PAC, es hiperbólica en todas las edades de ambos tratamientos; lo cual se halla de acuerdo con las relaciones reportadas para este tipo de curvas en los trabajos de Ishikawa y Mogyoros (*op. cit.* 1996; Mogyoros *et al.*, 1996).

La cronaxia y la reobase se obtuvieron de acuerdo a los siguientes pasos:

1. Se graficó el inverso de la duración (1/ms) contra la intensidad del estímulo, con lo que se obtuvo una línea recta ( $Y = mx + b$ , donde  $m$  es la pendiente,  $x$  es la cronaxia y  $b$  es la ordenada al origen).
2. Se realizó el ajuste de estas líneas y se encontraron los valores de la pendiente, la ordenada al origen y el coeficiente de correlación ( $m$ ,  $b$  y  $r$ , respectivamente: apéndice II).
3. La ordenada al origen fue la reobase y la cronaxia resultó de  $x = b/m$ .

En las tablas 7 y 8 se resumen los índices de cronaxia y reobase obtenidos de la linealización de las curvas intensidad-duración; y en general, se observan valores de cronaxia muy similares para los dos grupos experimentales (tabla 7).

EDAD (días)	CRONAXIA CONT	CRONAXIA DESN
8	0.133	0.118
12	0.071	0.084
16	0.060	0.093
18	0.085	0.114
30	0.157	0.113

Tabla 7. Valores promedio para la cronaxia (milisegundos), derivados de las curvas intensidad-duración del PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal.

EDAD (días)	REOBASE CONT	REOBASE DESN
8	26.67	66.50
12	10.66	17.34
16	12.44	38.36
18	11.39	12.30
30	7.31	7.58

Tabla 8. Valores de reobase promedio (en microamperios) derivados de las curvas intensidad-duración del PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal.

Por su parte, la reobase (tabla 8) calculada para los nervios control fue siempre más pequeña que la de los nervios desnutridos, aunque sólo se hallaron diferencias estadísticamente significativas ( $t$  4.5;  $P$  0.0003; apéndice III) a la edad de 8 días.

De acuerdo a las cronaxias calculadas (todas alrededor de 0.1 ms), la duración del estímulo para excitar a las fibras del nervio sural de ratas control y desnutridas de todas las edades debió ser de 0.1 ms, pues la cronaxia es la duración para gastar la mínima energía en la excitación (*op. cit.* 1996).

Por otro lado, teóricamente la reobase y el umbral deben coincidir, pues la primera es la intensidad de corriente con la que se obtiene la mínima respuesta de las fibras. En nuestro estudio el estímulo se dio con una duración de 0.05 milisegundos y debió darse de 0.1 ms para obtener respuestas óptimas, por ello las reobases calculadas son más pequeñas que los umbrales de activación (recordemos que la intensidad del pulso de estimulación disminuye con la duración del estímulo).

Finalmente, de acuerdo a nuestros resultados, podría indicarse que la deficiencia alimentaria impuesta a las ratas desnutridas, altera el umbral de las fibras más excitables en función de la duración de la corriente de estimulación, sólo a edades postnatales tempranas (8 a 16 días).

# DISCUSIÓN

## 1. Efecto de la desnutrición sobre el peso corporal.

El método de desnutrición perinatal empleado en la presente investigación realmente generó organismos desnutridos. Esto fue evidente en parámetros como la talla y el peso, y está acorde con múltiples estudios que relacionan desnutrición y sistema nervioso (Hedley-White y Meuser, 1971; Sima a y b, 1974; Morgane *et al.*, 1978, 1992 y 1993; Gundappa y Desiraju, 1988; Quirk *et al.*, 1995).

Pudo comprobarse que la restricción dietética retarda el crecimiento y la maduración física de los animales (Chow y Lee, 1964) y que a pesar de ello, los organismos desnutridos pueden realizar todas sus funciones vitales sin enfermar (*op. cit.* 1988). Sin embargo, existen estudios que mencionan retrasos en el desarrollo de reflejos motores, direccionalidad y locomoción en los organismos desnutridos (Gramsbergen y Westerga, 1992; *op. cit.* 1995).

Las causas de la reducción de talla y peso de las ratas desnutridas, se encuentran durante la última parte de la gestación y en el periodo de lactancia. En los estadíos tempranos de gestación, el feto recibe un aporte adecuado de nutrientes, y es sólo en la parte final del embarazo, cuando el estatus nutricional de la madre comienza a ser importante para su desarrollo futuro (*op. cit.* 1964). Esto es debido a que durante las primeras fases de gestación, las proteínas excesivas se depositan en los tejidos maternos, y en las etapas tardías estas proteínas almacenadas se utilizan en el proceso de crecimiento rápido del producto (McLaren, 1983). En las ratas madres desnutridas, no existen proteínas excesivas, por lo que el producto no crece como debiera y nace con peso y talla bajos.

Durante la lactancia (1-21 días de edad postnatal) se llevan a cabo procesos de crecimiento físico muy rápidos, y otros tan importantes como la neurogénesis, la gliogénesis y la mielinización de los axones del SNC y del SNP (Raine, 1977; *op. cit.* 1992). En este periodo, las ratas madres reciben una dieta adecuada en composición, pero insuficiente en cantidad, lo que provoca una producción subnormal de leche (Wiggins, 1982), que resulta en porcentajes de crecimiento menores para las crías.

## **2. Efecto de la desnutrición sobre los parámetros del PAC.**

La activación de la población de fibras de los nervios sural de los lotes control y desnutrido, generaron un PAC que incrementa su amplitud, área y velocidad de conducción, y disminuye su umbral con respecto a la edad de los organismos. Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por Fitzgerald en 1985, quien señala que los animales recién nacidos poseen axones muy delgados y de umbral alto; si se les aplica un estímulo, sólo algunas fibras pueden ser excitadas, por lo que se registra un PAC de amplitud y área pequeñas. A medida que los animales van creciendo, el diámetro de las fibras se incrementa, el umbral se reduce, puede activarse un número mayor de fibras y registrarse un PAC de amplitud y área mayores. Además, Friede y Samorajski (1968) mencionan que los nervios periféricos de la rata son relativamente lentos para mielinizarse completamente, y como resultado, la velocidad de conducción de las fibras que integran el PAC va aumentando durante el periodo postnatal.

Consideremos ahora que el PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas, muestra diferencias significativas entre la amplitud, el área, la velocidad de conducción y las curvas veces umbral-amplitud generadas por las fibras de 30 días; en tanto que para el umbral de activación eléctrica, las curvas intensidad-duración y la reobase, las diferencias significativas se hallan entre los nervios de 8, 12 y 16 días postnatales. Los parámetros en los que no se encontraron diferencias significativas a ninguna edad entre los lotes control y desnutrido, fueron la duración, el periodo refractario absoluto y la cronaxia.

## **3. Umbral de activación eléctrica de las fibras más excitables.**

Entre los 8 y 16 días, la intensidad de corriente eléctrica que se aplica para activar los axones del nervio sural de las ratas desnutridas es *significativamente mayor* que la necesaria para excitar las fibras de animales control. Esta diferencia también se observa en las curvas intensidad-duración y la reobase, y *podría explicarse* si se considera que la desnutrición ha afectado el crecimiento normal del diámetro de las fibras más excitables (pues el umbral de las fibras es *inversamente proporcional* a su diámetro: Willis y Coggeshall, 1978), lo cual concuerda con las observaciones histológicas realizadas por Sima (1974 a y b), quien reporta una

reducción en el diámetro de los axones que conforman el nervio ciático y las raíces dorsales (L5) de ratas desnutridas.

#### 4. Amplitud y Área máximas.

Por lo que respecta a las diferencias en amplitud y en área, se considerará más ampliamente la discusión en torno a la primera, ya que el valor del área depende principalmente de la *amplitud*, pues no existen diferencias significativas en la duración del PAC (*recordemos que el área se calculó a partir del producto de la amplitud por  $\frac{1}{2}$  de la duración*).

Ya se ha mencionado que el PAC es graduado y que varía su tamaño en relación a la intensidad del estímulo, debido a que cada vez se excitan más axones que contribuyen al registro total (Junge, 1981). De acuerdo a esto, puede señalarse que la proporción de fibras que responden a un estímulo de 2-3xU es semejante para el nervio sural de ratas control y desnutridas de entre 8 y 18 días; mientras que el decremento en *amplitud y área* del PAC encontrado en los nervios desnutridos de 30 días, podría ser debido a que: 1) tengan un número menor de axones, y/o 2) exista un bloqueo en la conducción de algunas de sus fibras. Analicemos estas posibilidades.

- ❖ Número menor de axones. Desde la sección de resultados hemos inferido que el PAC registrado se debe a la actividad de las fibras A, y según algunos autores, el número de fibras mielinizadas del nervio sural de ratas de 30 días, varía entre 1000 (Schlaepfer y Myers, 1973) y 1200 (ver apéndice I, figura 29). De acuerdo a un estudio histológico realizado en nervio ciático de ratas de 90 días, no existen *diferencias significativas* en el número de fibras mielinizadas de ratas control y desnutridas (*op. cit.*, 1974b), lo que fue corroborado en nuestro laboratorio, para el nervio sural de ratas de 30 días (ver apéndice I, figuras 28 y 29). De ello podría deducirse que la diferencia en *amplitud y área* del PAC generado por ratas control y desnutridas no está referida a un número menor de axones en los nervios de organismos desnutridos.
- ❖ Bloqueo de la conducción en algunas fibras (relacionado con la pérdida de excitabilidad). La excitabilidad de los axones mielinizados está relacionada con la actividad de canales de K y canales de Na dependientes de voltaje (Mogyoros *et al.*, 1996), estos canales se

encuentran en una cantidad considerablemente mayor en la región nodal del axón (Rogart y Ritchie, 1977). Las propiedades de la membrana nodal de las fibras más excitables que integran al PAC, se ven reflejadas en la cronaxia y la reobase (*op. cit.*, 1996), así que analizando estos parámetros podremos inferir qué pasa con la excitabilidad de los axones del nervio sural de las ratas desnutridas de 30 días. De acuerdo a nuestros datos, no existen diferencias significativas entre las cronaxias y las reobases de los nervios de 30 días, por lo que puede inferirse que no existen diferencias fundamentales en la organización de los canales iónicos de las fibras más excitables, o de menor umbral, de los nervios control y desnutridos de esa edad. Pero ¿qué pasa con las fibras de umbral medio y medio alto del nervio sural de individuos desnutridos de 30 días?

En las curvas veces umbral-amplitud de los organismos de 30 días, se muestra que el método de desnutrición empleado afecta a los grupos de fibras de diferente umbral, y que a pesar de que los nervios de ratas control y desnutridas poseen un número semejante de fibras mielinizadas, la amplitud del PAC de los nervios desnutridos es menor, en consecuencia, puede suponerse que las fibras de umbral medio y medio alto de ratas desnutridas, se vuelven inexcitables, pues su conducción está bloqueada (véase más adelante).

## 5. Velocidad de conducción.

La velocidad de conducción es el parámetro utilizado más frecuentemente para evaluar la función de un nervio, y depende de la presencia y de las características de la vaina de mielina que envuelve al axón (*op. cit.*, 1977; Waxman, 1977). Las características de la vaina de mielina que influyen de manera importante en la velocidad de conducción incluyen el grado de mielinización, la densidad de empaquetamiento (Gutiérrez *et al.*, 1995), y la longitud internodal (Bowe *et al.*, 1994) entre otras. Todas estas características están determinadas por el diámetro del axón (Friede, 1972; *op. cit.* 1973, 1994, 1995).

La velocidad de conducción de las ratas desnutridas de 30 días es significativamente menor que la de las ratas control de la misma edad, y ello puede estar relacionado con varias causas: a) composición inadecuada de la mielina, b) fallas para alcanzar el tamaño normal de los axones y/o c) mielinización reducida.

- ❖ Composición química inadecuada de la vaina de mielina. Se ha reportado que las concentraciones de cerebrósidos, colesterol y proteolípidos que integran a la mielina del SNC, se ven notablemente disminuidas en las ratas desnutridas (Bass *et al.*, 1970). Probablemente esto también podría ocurrir con la mielina de los nervios periféricos; sin embargo, la mielinización de los axones del SNP es previa a la del SNC (*op. cit.* 1977), y es llevada a cabo por células distintas a las células mielinizantes del SNC, por lo que la composición de la mielina periférica podría verse menos afectada. Además, no existen evidencias que indiquen que la reducción en la concentración de algunos elementos de la mielina, provoque una pérdida de su función aislante y altere la velocidad de conducción.
- ❖ Fallas para desarrollar el diámetro normal de las fibras. El PAC registrado en el nervio sural de ratas control y desnutridas se debe a la actividad conjunta de las fibras A. Puede ser que el diámetro de las fibras de los nervios desnutridos de 30 días se vea reducido, y en consecuencia, éstas generarían velocidades de conducción menores a las halladas en los nervios control, pues como ya se ha mencionado, las características de la vaina de mielina dependen del diámetro del axón. Este argumento está apoyado por investigaciones en las que se ha mostrado que la desnutrición retarda el crecimiento del diámetro axonal de las fibras de las raíces dorsales (segmento lumbar 5) y del nervio ciático (*op. cit.* 1974 a y b), y por registros histológicos del nervio sural de ratas control y desnutridas de 30 días (apéndice I, figuras 30 y 31), en los que se observa que el porcentaje de fibras más gruesas de los nervios control es mayor que el de los nervios desnutridos.
- ❖ Mielinización reducida. Varios autores han observado que los axones del nervio ciático de ratas sometidas a desnutrición neonatal, presentan una reducción en el grosor de la vaina de mielina (Clos y Legrand, 1969; *op. cit.* 1971) o en el número de lamelas que rodean a las fibras nerviosas (*op. cit.* 1974 a y b). De acuerdo a nuestros datos, a edades postnatales relativamente tempranas (8 a 18 días), los axones del nervio sural de las ratas control y desnutridas no han terminado aún su proceso de mielinización; pues la aparición y el rápido incremento de las fibras mielinizadas ocurre entre los 2 y 20 días de edad postnatal (*op. cit.* 1973). Después de los 18 días, la mielinización podría continuar en forma normal en las

fibras de las ratas control, en tanto que en los animales desnutridos la mielinización de los axones no se realizaría en forma adecuada y el grosor de su vaina de mielina se vería reducido, lo cual está apoyado por el análisis histológico de nervios control y desnutridos de 30 días (apéndice I, figura 31B).

Esta reducción en el grosor de la vaina de mielina podría tener otras implicaciones, pues se sabe que en los axones mielinizados normalmente, el PA es generado por la activación de canales de Na dependientes de voltaje, que se distribuyen en grupos de gran densidad en el centro del nodo de Ranvier (Vabnick *et al.*, 1997). Aunque algunos estudios sugieren que la asociación de la célula de Schwann no se requiere para que la especialización nodal ocurra en el axolema (Waxman y Foster, 1980), existen evidencias que sugieren que las células de Schwann inducen la densa agregación de los canales de Na en el nodo de Ranvier durante el desarrollo (*op. cit.* 1997). De acuerdo a esto, podría ser que al alterarse el proceso de mielinización en algunas de las fibras de los nervios desnutridos de 30 días, la longitud del internodo se redujera y el nodo de Ranvier se hiciera más ancho, con lo que se perdería la agregación de los canales de Na en el centro del nodo, los cuales se dispersarían a lo largo de la membrana nodal; en consecuencia, estas fibras no podrían ser excitadas, la conducción se bloquearía y existiría una reducción de la amplitud y el área del PAC de los nervios desnutridos en comparación con los control. Esta suposición coincide con los estudios realizados en ratones con mielinización deficiente, inducida al alterar las células de Schwann (*Ibid*).

#### **6. Período Refractorio Poblacional Absoluto.**

Los valores del período refractorio poblacional absoluto de las fibras de los lotes control y desnutrido de todas las edades fueron semejantes, por lo que puede indicarse que el proceso de recuperación de las fibras nerviosas (activación de los canales de K e inactivación de los canales de Na) no se ve afectado significativamente por la desnutrición perinatal. En relación a los nervios desnutridos de 30 días puede señalarse que las fibras que sí pueden ser activadas por el estímulo eléctrico posiblemente mantengan propiedades electrofisiológicas parecidas (pero no estrictamente iguales) a las de las fibras control.

En base a la evidencia obtenida en la presente tesis, podría proponerse la siguiente serie de eventos que sucederían en las fibras *mielinizadas* de los nervios de ratas desnutridas de 8 a 30 días de edad postnatal: las fibras más excitables de 8 a 16 días tendrían un diámetro menor que el de las control, y en consecuencia, su umbral sería mayor; en este intervalo de tiempo, transcurriría su proceso de mielinización y algunas lograrían recuperarse y alcanzar el diámetro normal (por lo que no hay diferencias significativas en la cronaxia, la reobase y el umbral de las fibras más excitables de 18 y 30 días), en tanto que otras tendrían diámetro *reducido* y no realizarían su proceso de mielinización normalmente, lo que conllevaría al enlentecimiento de la conducción en algunos casos, y en otros, a la pérdida de excitabilidad y al bloqueo de la conducción (diferencias en amplitud y área).

Finalmente, de este análisis pueden desprenderse varios hechos importantes:

- ❖ En un axón *mielinizado* sólo existen *dos* características susceptibles de experimentar algún cambio durante la desnutrición: el diámetro y la vaina de mielina de las fibras. La disminución en el diámetro y en el grosor de la vaina de mielina de los axones, podría producir alteraciones en la distribución nodal de los canales de Na, lo que a su vez podría generar cambios en la amplitud y el área del PAC generado en los nervios *desnutridos*.
- ❖ Aparentemente, las alteraciones en amplitud, área, velocidad de conducción y umbral del PAC que se observan en los animales desnutridos, son debidas a la desnutrición postnatal, pues es después del nacimiento cuando se incrementa el diámetro de los axones y se *mielinizan* las fibras destinadas a ello (Jacobson, 1991). Esto es muy importante, pues el período de lactancia en la rata es el intervalo de crecimiento *cerebral más rápido*, y corresponde en los *humanos* desde el último trimestre del embarazo hasta los 3 años de edad (*op. cit.* 1995).
- ❖ Los cientos de axones que integran a un nervio, tienen la función de conducir los mensajes neurales de un sitio a otro con un mínimo de retraso y sin alteración en el contenido o la forma (Waxman, 1975). Las fibras *mielinizadas* del nervio *sural* transmiten *información* relacionada con *presión, temperatura, vibración* y otras, y la desnutrición perinatal puede afectar la velocidad de conducción y la amplitud de estos mensajes y causar problemas en

la integración de la información, lo que traería como consecuencia que los animales no respondieran adecuadamente a las alteraciones del medio, sobre todo si consideramos que la funcionalidad del SNC también está gravemente afectada por la desnutrición (*op. cit.* 1992).

## CONCLUSIONES

- ❖ La desnutrición perinatal retarda el crecimiento físico de las ratas desnutridas, pues su peso y talla son notablemente más bajos que los de los organismos control de todas las edades consideradas.
- ❖ El PAC registrado en los nervios de ratas control y desnutridas de todas las edades corresponde a la actividad conjunta de las fibras A.
- ❖ Las fibras de los nervios de los lotes control y desnutrido generan un PAC que incrementa su amplitud, área y velocidad de conducción, y disminuye su umbral con respecto a la edad de los organismos.
- ❖ Las diferencias en amplitud, área y velocidad de conducción observadas en los PAC's de nervios control y desnutridos de 30 días, permiten inferir que la desnutrición afecta el crecimiento normal y la excitabilidad de las fibras mielinizadas del nervio sural de las ratas desnutridas de esta edad. La diferencia en velocidad de conducción también podría estar relacionada con una mielinización deficiente en los organismos desnutridos.
- ❖ El umbral de activación eléctrica de las fibras más excitables del nervio sural de ratas desnutridas se ve marcadamente afectado a edades tempranas (8, 12 y 16 días), debido posiblemente, a diferencias en la distribución de los diámetros de las fibras de las ratas desnutridas.
- ❖ El método de desnutrición empleado no incidió significativamente en la recuperación de las fibras más excitables, después de generar un PAC.
- ❖ Las alteraciones en amplitud, área, velocidad de conducción y umbral que se observan en los animales desnutridos, pueden ser debidas a la desnutrición postnatal, pues es después del nacimiento cuando se incrementa el diámetro de los axones y se mielinizan las fibras destinadas a ello.

## P E R S P E C T I V A S

La presente tesis forma parte de un proyecto de desnutrición que incluye a los sistemas muscular y nervioso. En lo que respecta al Sistema Nervioso Periférico las perspectivas de trabajo son las siguientes:

- ❖ **Histología.** Realizar cortes histológicos, en los que se determine el número y diámetro de las fibras mielinizadas, la cantidad de lamelas y el grosor de las vainas de mielina del nervio sural de ratas bien alimentadas y de organismos a los que se les ha impuesto una *deficiencia alimentaria*, con el fin de corroborar o explicar más fehacientemente los efectos electrofisiológicos que se observaron en el presente estudio.
  
- ❖ **Permanencia de efectos.** Continuar con el registro electrofisiológico del PAC del nervio sural en ratas adultas, control y desnutridas, con la finalidad de mostrar el grado de permanencia de las alteraciones producidas por la desnutrición.
  
- ❖ **Reversibilidad de efectos.** Aplicar la metodología de registro del PAC a ratas control y desnutridas-rehabilitadas, es decir, ratas a las que se les impone una restricción alimenticia durante algún periodo, y posterior a ello, se alimentan normalmente. Si esta "realimentación" se lleva a cabo a diferentes etapas (nacimiento, 8 días, 12 días, etc.), podrá indicarse el intervalo de tiempo en el que se recuperan las propiedades electrofisiológicas de los nervios periféricos sensoriales.

# APÉNDICE I

## Análisis histológico de nervios control y desnutridos de 30 días de edad postnatal

En este apéndice se muestran datos del análisis histológico correspondiente a 4 nervios control y 4 nervios desnutridos de ratas de 30 días de edad postnatal. La técnica histológica fue realizada en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, y los resultados nos fueron facilitados como apoyo para la discusión del presente trabajo (Datos del Dr. Ismael Jiménez y M. en C. Bertha Segura).

En la figura 28 se presentan cortes transversales del nervio sural derecho de ratas control y desnutridas de 30 días. Pueden apreciarse las fibras mielinizadas como estructuras más o menos circulares, con rebordes negros que constituyen su vaina de mielina. Además, se observa que los nervios de individuos control presentaron una mayor cantidad de tejido conectivo (endoneurio, perineurio y epineurio) y de tejido adiposo, por lo que los nervios desnutridos se aprecian bastante compactados.

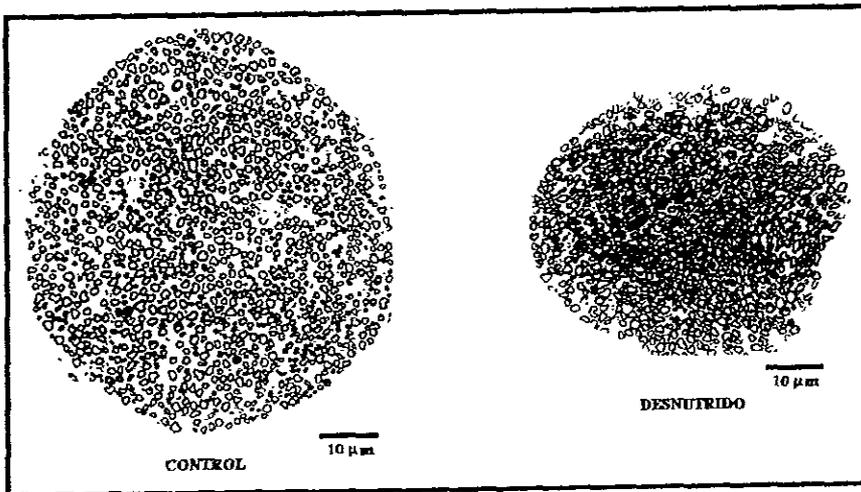


Figura 28. Digitalización de microfotografías (40x) en la que se muestran cortes transversales del nervio sural derecho de ratas control y desnutridas de 30 días de edad postnatal

Debido a esta "compactación", los nervios control presentaron mayor área que los desnutridos, y a pesar de ello, no se observaron diferencias significativas entre el número de fibras de ambos lotes; este número osciló entre 1100 y 1200 (Figura 29).

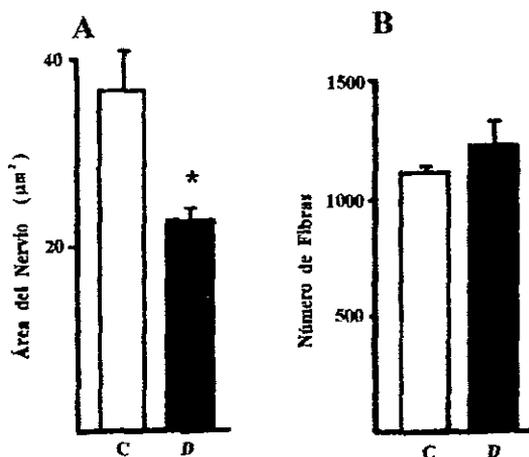


Figura 29. Histogramas del área (A) y del número de fibras del nervio sural (B) de ratas control (□) y desnutridas(■) de 30 días de edad postnatal (n=4), obtenidos a partir de microfotografías en sección transversal (\* diferencias significativas t de student P<0.0001).

Del análisis histológico de las fibras mielinizadas, se desprendieron los datos del diámetro de las fibras (incluyendo vaina de mielina), el diámetro del axón (sin vaina de mielina) y el grosor de la vaina de mielina (Figuras 30 y 31).

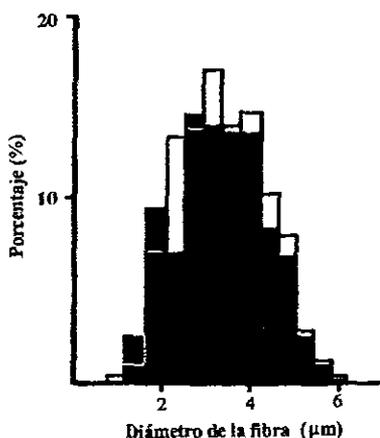


Figura 30. Distribución de frecuencias del diámetro de las fibras (incluyendo vaina de mielina) del nervio sural de ratas control (□) y desnutridas(■) de 30 días de edad postnatal (n=4).

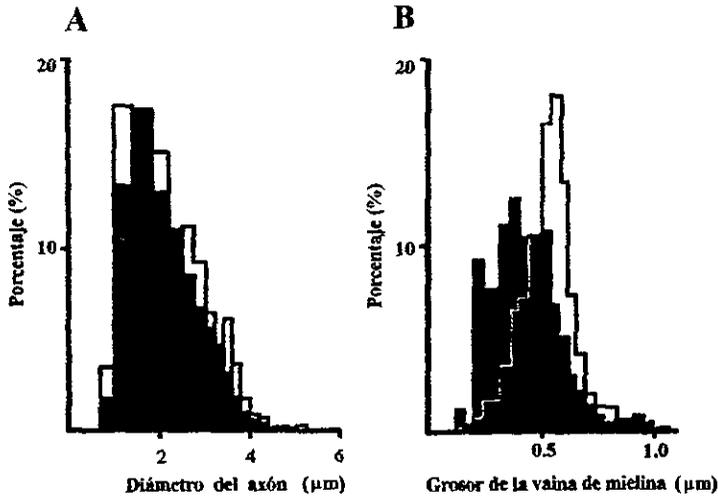


Figura 31. Distribución de frecuencias del: A) diámetro del axón (sin incluir vaina de mielina) y B) del grosor de la vaina de mielina, obtenidos de microfotografías de cortes transversales del nervio sural de ratas control (□) y desnutridas(■) de 30 días de edad postnatal (n=4).

Por lo que respecta al diámetro incluyendo vaina de mielina, no se aprecian diferencias significativas entre la población de fibras de los nervios de ratas control y desnutridas; sin embargo, al analizar separadamente el diámetro del axón (sin mielina) y el grosor de la vaina de mielina, se observa que las fibras de nervios desnutridos presentan una vaina de mielina más delgada y diámetros ligeramente menores que los de las fibras control; lo cual sugiere que el proceso de mielinización de las fibras que integran los nervios desnutridos se encuentra alterado.

## APÉNDICE II

### Tablas de Resultados

En este apéndice se muestran las tablas de resultados a partir de las cuales se elaboraron las gráficas que se presentan en la sección de resultados. En todas las tablas se señala la media y el error estándar de cada uno de los parámetros considerados para las ratas control y desnutridas de diferentes edades postnatales (el tamaño de la muestra es igual a 10 en todos los casos, excepto peso).

EDAD (días)	PESO (g)	AMPLITUD ( $\mu V$ )	AREA (U.A.)	DURACIÓN (ms)	UMBRAL ( $\mu A$ )	VEL. COND. (m/s)	P. REF. ABS. (ms)
8 (n=10)	20.44 $\pm$ 1.07 (n=9)	326.4 $\pm$ 62.96	268.94 $\pm$ 76.50	1.71 $\pm$ 0.3	79.2 $\pm$ 12.81	5.90 $\pm$ 0.65	2.97 $\pm$ 0.34
12 (n=10)	26.34 $\pm$ 2.01 (n=9)	679.8 $\pm$ 104.43	425.6 $\pm$ 69.30	1.26 $\pm$ 0.12	29.5 $\pm$ 9.30	10.01 $\pm$ 0.96	2.58 $\pm$ 0.31
16 (n=10)	41.55 $\pm$ 1.09 (n=7)	1025.4 $\pm$ 105.3	503.17 $\pm$ 46.69	1.01 $\pm$ 0.06	38.5 $\pm$ 8.03	12.94 $\pm$ 0.80	2.58 $\pm$ 0.23
18 (n=10)	52.39 $\pm$ 2.09 (n=9)	1296.0 $\pm$ 140.31	599.3 $\pm$ 96.11	0.92 $\pm$ 0.08	33.6 $\pm$ 5.22	17.81 $\pm$ 1.88	2.04 $\pm$ 0.17
30 (n=10)	110.76 $\pm$ 6.39 (n=6)	3047.7 $\pm$ 239.37	1166.55 $\pm$ 73.05	0.8 $\pm$ 0.06	24.5 $\pm$ 4.15	26.87 $\pm$ 3.44	1.44 $\pm$ 0.07

Tabla 9. Peso corporal y parámetros que permiten caracterizar el PAC del nervio sural de las ratas control de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal.

EDAD (días)	PESO (g)	AMPLITUD ( $\mu V$ )	AREA (U.A.)	DURACIÓN (ms)	UMBRAL ( $\mu A$ )	VEL. COND. (m/s)	P. REF. ABS. (ms)
8 (n=10)	11.42 $\pm$ 0.50 (n=7)	183.3 $\pm$ 42.28	187.05 $\pm$ 36.12	2.21 $\pm$ 0.43	224.7 $\pm$ 22.43	4.08 $\pm$ 0.85	3.66 $\pm$ 0.33
12 (n=10)	13.01 $\pm$ 0.95 (n=9)	521.3 $\pm$ 74.45	300.21 $\pm$ 59.45	1.26 $\pm$ 0.21	56.0 $\pm$ 15.25	8.18 $\pm$ 1.03	2.88 $\pm$ 0.21
16 (n=10)	16.76 $\pm$ 1.08 (n=9)	814.6 $\pm$ 152.14	436.41 $\pm$ 91.04	1.05 $\pm$ 0.14	91.4 $\pm$ 16.24	11.80 $\pm$ 0.60	2.8 $\pm$ 0.48
18 (n=10)	17.06 $\pm$ 0.92 (n=9)	1226.8 $\pm$ 141.31	578.68 $\pm$ 123.27	0.86 $\pm$ 0.10	36.7 $\pm$ 8.02	13.81 $\pm$ 1.80	2.45 $\pm$ 0.05
30 (n=10)	29.53 $\pm$ 2.45 (n=10)	1467.7 $\pm$ 113.65	497.06 $\pm$ 50.07	0.71 $\pm$ 0.09	28.1 $\pm$ 6.01	17.31 $\pm$ 1.96	1.48 $\pm$ 0.10

Tabla 10. Peso corporal y parámetros que permiten caracterizar el PAC del nervio sural de las ratas desnutridas de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal.

INTENSIDAD										
DURACION (ms)	8 CONT ( $\mu A$ )	8 DESN ( $\mu A$ )	12 CONT ( $\mu A$ )	12 DESN ( $\mu A$ )	16 CONT ( $\mu A$ )	16 DESN ( $\mu A$ )	18 CONT ( $\mu A$ )	18 DESN ( $\mu A$ )	30 CONT ( $\mu A$ )	30 DESN ( $\mu A$ )
0.05 (n=10)	98.7 $\pm$ 12.15	247.2 $\pm$ 24.42	32.0 $\pm$ 8.48	62.3 $\pm$ 15.48	34.9 $\pm$ 7.74	104.1 $\pm$ 17.45	34.8 $\pm$ 5.54	41.5 $\pm$ 9.34	28.6 $\pm$ 4.94	28.4 $\pm$ 5.24
0.1 (n=10)	71.0 $\pm$ 9.38	186.2 $\pm$ 19.84	23.7 $\pm$ 6.08	44.0 $\pm$ 10.84	25.4 $\pm$ 4.83	76.3 $\pm$ 14.58	26.4 $\pm$ 4.35	28 $\pm$ 6.23	18 $\pm$ 3.34	19.4 $\pm$ 3.50
0.2 (n=10)	48.7 $\pm$ 6.31	133.8 $\pm$ 13.86	17.1 $\pm$ 3.85	31.9 $\pm$ 7.66	18.7 $\pm$ 3.29	59.8 $\pm$ 13.63	20.7 $\pm$ 3.49	20.2 $\pm$ 4.95	13 $\pm$ 2.56	13.5 $\pm$ 2.31
0.5 (n=10)	34.6 $\pm$ 4.28	83.2 $\pm$ 9.87	13.2 $\pm$ 2.44	22.1 $\pm$ 4.80	15.8 $\pm$ 2.99	46.2 $\pm$ 13.40	13.6 $\pm$ 1.95	15.9 $\pm$ 3.87	8.9 $\pm$ 1.74	10.0 $\pm$ 1.52
1.0 (n=10)	24.3 $\pm$ 2.91	52.7 $\pm$ 8.90	9.9 $\pm$ 1.45	15.8 $\pm$ 2.89	11.6 $\pm$ 2.00	35.8 $\pm$ 11.18	9.3 $\pm$ 1.36	12.4 $\pm$ 3.12	6.3 $\pm$ 1.26	7.4 $\pm$ 1.18

Tabla 11. Valores empleados en la elaboración de las curvas intensidad-duración (0.05, 0.1, 0.2, 0.5 y 1.0 ms) para el nervio sural de ratas control y desnutridas de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal.

VALORES DE LA REGRESIÓN LINEAL CON LOS QUE SE CALCULARON LA CRONAXIA Y LA REOBASE										
VALORES	8 CONT	8 DESN	12 CONT	12 DESN	16 CONT	16 DESN	18 CONT	18 DESN	30 CONT	30 DESN
b (n=10)	26.67 $\pm$ 1.17	66.8 $\pm$ 2.53	10.67 $\pm$ 0.53	17.34 $\pm$ 1.13	12.45 $\pm$ 0.65	38.49 $\pm$ 3.85	11.39 $\pm$ 0.53	12.3 $\pm$ 1.01	6.36 $\pm$ 0.45	7.58 $\pm$ 0.38
m (n=10)	3.78 $\pm$ 0.16	9.76 $\pm$ 0.41	1.11 $\pm$ 0.11	2.35 $\pm$ 0.22	1.16 $\pm$ 0.09	3.41 $\pm$ 0.14	1.25 $\pm$ 0.07	1.48 $\pm$ 0.10	1.13 $\pm$ 0.06	1.072 $\pm$ 0.07
r (n=10)	0.985 $\pm$ 0.003	0.96 $\pm$ 0.004	0.985 $\pm$ 0.001	0.986 $\pm$ 0.001	0.998 $\pm$ 0.002	0.986 $\pm$ 0.002	0.963 $\pm$ 0.003	0.996 $\pm$ 0.002	0.995 $\pm$ 0.001	0.993 $\pm$ 0.003

Tabla 12. Valores de la regresión lineal empleados en la obtención de la cronaxia y la reobase a partir de las curvas duración-intensidad, del nervio sural de ratas control y desnutridas de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal (n=10).

**AMPLITUD**

VECES UMBRAL	8 CONT (μV)	8 DESN (μV)	12 CONT (μV)	12 DESN (μV)	16 CONT (μV)	16 DESN (μV)	18 CONT (μV)	18 DESN (μV)	30 CONT (μV)	30 DESN (μV)
1.2	86.8 ± 21.3	60.7 ± 8.5	71.2 ± 8.9	122.3 ± 38.8	220 ± 18.2	228.5 ± 61.7	218.1 ± 52.8	188.4 ± 44.3	258.4 ± 65.2	180.3 ± 49
1.4	131.7 ± 31.6	106.7 ± 28.3	219.5 ± 58.6	186.4 ± 38.9	387.8 ± 47.1	304.4 ± 51.8	353.2 ± 81.2	401.8 ± 85.7	621.9 ± 108.4	352.6 ± 105.2
1.6	156.7 ± 29.5	151.0 ± 40.8	313.5 ± 75.1	269.6 ± 77.4	554.5 ± 82.2	635.3 ± 134.1			1084.2 ± 199	486.6 ± 159
1.8			452.8 ± 91.4	379.1 ± 72.5	654.0 ± 112.2	814 ± 276.8	758.6 ± 118.1	788.2 ± 185.3	1339.2 ± 244	748.0 ± 140.5
2.0	249.5 ± 47.4	191.5 ± 50.4	522.2 ± 101.0	388.0 ± 80.1	783.0 ± 85.4	842.6 ± 283.3	865.8 ± 136	819.2 ± 146.1	2012.8 ± 199	1156.7 ± 145
2.2	369.3 ± 72.8	284.7 ± 64.5	547.2 ± 106.2	403.3 ± 92.1						
2.4			587.8 ± 127.5	463.4 ± 106.2			1069.8 ± 208	1221.0 ± 350		
2.6										
2.8			685.2 ± 164.2	598.0 ± 96.1	1010.2 ± 184	1028 ± 312.4	1523.0 ± 314	1323.8 ± 167		
3.0			834.0 ± 194.0	607.5 ± 77.8					3055.2 ± 267	1493.6 ± 7

Tabla 13. Valores utilizados para construir las gráficas de veces umbral contra amplitud. Se muestran los datos del nervio sural de ratas control y desnutricidas de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal.

## APÉNDICE III

En las tablas 14 a 28 se muestran los valores y significancia de las pruebas de *t* que comparan los datos del PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas de 8, 12, 16, 18 y 30 días de edad postnatal. La prueba fue de dos colas, no pareada y se realizó utilizando el programa GraphPad InStat *tm*, versión 2.03. Los niveles de significancia considerados fueron: P=0.001: diferencia extremadamente significativa (ES); P=0.01: muy significativa (MS) y P=0.05: significativa. NS indica una diferencia no significativa.

CARACTERÍSTICA	VALOR DE <i>t</i>	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
Peso	8.96	< 0.0001	ES
Amplitud máxima	1.88	0.075	NS
Área máxima	0.95	0.350	NS
Duración	0.94	0.359	NS
Umbral de activación	5.63	< 0.0001	ES
Velocidad de conducción	1.68	0.109	NS
Periodo Refractario	1.39	0.222	NS
Cronaxia	0.40	0.691	NS
Reobase	4.50	0.0003	ES

Tabla 14. Valores derivados de las pruebas de *t* aplicadas a las características del PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas de 8 días de edad postnatal.

DURACIÓN (ms)	VALOR DE <i>t</i>	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
0.05	5.44	< 0.0001	ES
0.1	5.33	< 0.0001	ES
0.2	5.58	< 0.0001	ES
0.5	4.51	0.0003	ES
1.0	3.03	0.0072	MS

Tabla 15. Valores de las pruebas de *t* que comparan el umbral del PAC a diferentes duraciones del estímulo en el nervio sural de ratas control y desnutridas de 8 días de edad postnatal.

VECES UMBRAL	VALOR DE <i>t</i>	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
1.2	1.32	0.212	NS
1.4	0.59	0.563	NS
1.6	0.11	0.911	NS
2.0	0.78	0.452	NS
2.2	0.80	0.441	NS

Tabla 16. Valores de las pruebas de *t* que comparan las amplitudes del PAC a diferentes intensidades de estimulación (expresada como veces umbral). Datos del nervio sural de ratas control y desnutridas de 8 días de edad postnatal.

CARACTERÍSTICA	VALOR DE <i>t</i>	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
Peso	6.54	< 0.0001	ES
Amplitud máxima	1.23	0.232	NS
Área máxima	1.37	0.186	NS
Duración	0.007	0.993	NS
Umbral de activación	1.48	0.115	NS
Velocidad de conducción	1.29	0.211	NS
Período Refractario	0.69	0.500	NS
Cronaxia	0.54	0.592	NS
Reobase	1.67	0.110	NS

Tabla 17. Valores derivados de las pruebas de *t* aplicadas a las características del PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas de 12 días de edad postnatal.

DURACIÓN (ms)	VALOR DE <i>t</i>	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
0.05	1.71	0.103	NS
0.1	1.63	0.120	NS
0.2	1.72	0.101	NS
0.5	1.65	0.116	NS
1.0	1.81	0.085	NS

Tabla 18. Valores de las pruebas de *t* que comparan el umbral del PAC a diferentes duraciones del estímulo en el nervio sural de ratas control y desnutridas de 12 días de edad postnatal.

VECES UMBRAL	VALOR DE <i>t</i>	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
1.2	1.47	0.167	NS
1.4	0.47	0.638	NS
1.6	0.38	0.707	NS
1.8	0.61	0.545	NS
2.0	0.95	0.357	NS
2.2	0.75	0.467	NS
2.4	0.70	0.496	NS
2.8	0.53	0.607	NS
3.0	1.36	0.245	NS

Tabla 19. Valores de las pruebas de *t* que comparan las amplitudes del PAC a diferentes intensidades de estimulación (expresada como veces umbral). Datos del nervio sural de ratas control y desnutridas de 12 días de edad postnatal.

CARACTERÍSTICA	VALOR DE <i>t</i>	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
Peso	18.05	< 0.0001	ES
Amplitud máxima	1.14	0.269	NS
Área máxima	0.65	0.522	NS
Duración	0.33	0.741	NS
Umbral de activación	2.91	0.009	MS
Velocidad de conducción	1.13	0.272	NS
Período Refractario	0.41	0.682	NS
Cronaxia	1.08	0.291	NS
Reobase	2.09	0.050	NS

Tabla 20. Valores derivados de las pruebas de *t* aplicadas a las características del PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas de 16 días de edad postnatal.

DURACIÓN (ms)	VALOR DE t	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
0.05	3.62	0.001	MS
0.1	3.31	0.003	MS
0.2	2.93	0.008	MS
0.5	2.21	0.040	S
1.0	2.13	0.047	S

Tabla 21. Valores de las pruebas de t que comparan el umbral del PAC a diferentes duraciones del estímulo en el nervio sural de ratas control y desnutridas de 16 días de edad postnatal.

VECES UMBRAL	VALOR DE t	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
1.2	0.16	0.875	NS
1.4	1.15	0.266	NS
1.6	0.53	0.606	NS
1.8	0.64	0.531	NS
2.0	0.25	0.806	NS
2.8	0.03	0.971	NS

Tabla 22. Valores de las pruebas de t que comparan las amplitudes del PAC a diferentes intensidades de estimulación (expresada como veces umbral). Datos del nervio sural de ratas control y desnutridas de 16 días de edad postnatal.

CARACTERÍSTICA	VALOR DE t	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
Peso	17.31	< 0.0001	ES
Amplitud máxima	0.34	0.732	NS
Área máxima	0.13	0.896	NS
Duración	0.43	0.666	NS
Umbral de activación	0.32	0.750	NS
Velocidad de conducción	1.53	0.143	NS
Periodo Refractorio	1.42	0.184	NS
Cronaxia	1.01	0.326	NS
Reobase	0.25	0.804	NS

Tabla 23. Valores derivados de las pruebas de t aplicadas a las características del PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas de 18 días de edad postnatal.

DURACIÓN (ms)	VALOR DE t	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
0.05	0.61	0.545	NS
0.1	0.21	0.835	NS
0.2	0.08	0.935	NS
0.5	0.52	0.602	NS
1.0	0.90	0.375	NS

Tabla 24. Valores de las pruebas de t que comparan el umbral del PAC a diferentes duraciones del estímulo en el nervio sural de ratas control y desnutridas de 18 días de edad postnatal.

VECES UMBRAL	VALOR DE t	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
1.2	0.40	0.693	NS
1.4	0.40	0.691	NS
1.8	0.14	0.889	NS
2.0	0.23	0.820	NS
2.4	0.38	0.717	NS
2.8	0.59	0.571	NS

Tabla 25. Valores de las pruebas de t que comparan las amplitudes del PAC a diferentes intensidades de estimulación (expresada como veces umbral). Datos del nervio sural de ratas control y desnutridas de 18 días de edad postnatal.

CARACTERÍSTICA	VALOR DE t	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
Peso	14.69	< 0.0001	ES
Amplitud máxima	5.96	< 0.0001	ES
Área máxima	7.55	< 0.0001	ES
Duración	0.78	0.440	NS
Umbral de activación	0.49	0.628	NS
Velocidad de conducción	2.41	0.026	S
Periodo Refractario	0.33	0.744	NS
Cronaxia	1.01	0.326	NS
Reobase	0.14	0.888	NS

Tabla 26. Valores derivados de las pruebas de t aplicadas a las características del PAC del nervio sural de ratas control y desnutridas de 30 días de edad postnatal.

DURACIÓN (ms)	VALOR DE t	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
0.05	0.02	0.978	NS
0.1	0.28	0.775	NS
0.2	0.14	0.886	NS
0.5	0.47	0.640	NS
1.0	0.63	0.533	NS

Tabla 27. Valores de las pruebas de t que comparan el umbral del PAC a diferentes duraciones del estímulo en el nervio sural de ratas control y desnutridas de 30 días de edad postnatal.

VECES UMBRAL	VALOR DE t	VALOR DE P	SIGNIFICANCIA
1.2	0.96	0.357	NS
1.4	1.78	0.112	NS
1.6	2.27	0.071	NS
1.8	2.00	0.070	NS
2.0	3.49	0.004	MS
3.0	4.01	0.002	MS

Tabla 28. Valores de las pruebas de t que comparan las amplitudes del PAC a diferentes intensidades de estimulación (expresada como veces umbral). Datos del nervio sural de ratas control y desnutridas de 30 días de edad postnatal.

## APÉNDICE IV

### Elaboración de Electrodo de Succión para Registro y Estimulación

La técnica para registrar el PAC con electrodos de succión, fue diseñada por Stys y colaboradores (Stys *et al*, 1991; Stys,1993). Con esta técnica puede reducirse considerablemente la inestabilidad asociada a este tipo de señales, además de que permite registrarlos durante varias horas.

Un electrodo de succión es un capilar de vidrio, dentro del cual se halla un alambre de plata. El capilar tiene una ligera constricción en uno de sus extremos, ésta es necesaria para que el nervio se ajuste contra las paredes internas del electrodo al momento de succionarse hacia su interior.

Durante el experimento, el capilar se llena con una solución de baño que va de acuerdo al tejido en cuestión. El diámetro interno del capilar se escoge de acuerdo al grosor del nervio en estudio (Figura 32).

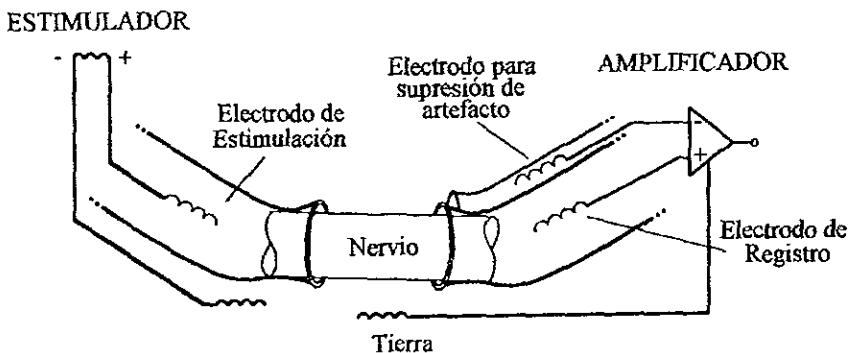


Figura 32. Diagrama de los electrodos de succión. Cada extremo del nervio es cuidadosamente insertado en los electrodos de succión, de tal modo que cuando se aplica un pulso de estimulación por el electrodo de estímulo, puede registrarse un PAC en el electrodo opuesto. Un segundo electrodo se sitúa cerca de la boca del electrodo de registro con el fin de suprimir parcialmente el artefacto del estímulo (Modificado de Stys, 1993).

Los electrodos se elaboran de acuerdo a los siguientes pasos:

1. Tubos capilares de 10 centímetros y de bajo punto de fusión se calientan por la parte central, y se estiran, de tal forma que a partir de cada tubo se fabriquen 2 electrodos.
2. La punta de los capilares estirados se pule en una lija fina hasta que alcanza un cierto diámetro interno, después se pasa rápidamente por la flama de un mechero y se introduce en agua.
3. El diámetro interno (en micras) de los capilares se mide en un microscopio óptico, utilizando una regleta en el ocular, mediante esto, también se verifica que no existan restos de vidrio en la punta del capilar.
4. Los capilares medidos se calientan a 4 centímetros de la punta, hasta que se curvan y forman una especie de periscopio. Esta forma facilita la inserción de los nervios y minimiza el daño que puede ocasionárseles en este proceso.
5. Los alambres de plata que se utilizarán para los electrodos, se sueldan a pines (machos o hembras). El alambre para los electrodos de registro se clorura con blanqueador casero.
6. Un pedazo de tubo de plástico se sujeta al extremo opuesto a la punta del capilar y, un alambre de plata para registro (previamente clorurado) se inserta a través de la pared del tubo de plástico, cerca del capilar, y avanza hacia la punta hasta 1 ó 2 mm de la abertura.
7. El electrodo de estimulación se construye de la misma manera que el de registro, excepto que el alambre de plata no se clorura y, para aislar los pulsos de estimulación, un segundo alambre (de plata y forrado de plástico) se enreda alrededor del capilar hasta que uno de sus extremos queda cerca de la punta del electrodo.
8. Una vez fabricados, los electrodos se sellan para evitar que la solución pueda salir o que la succión del nervio no sea eficiente. El material que se utiliza para sellarlos es resina de secado rápido.
9. Los electrodos se llenan de solución mediante jeringas que se conectan a sus tubos de plástico y, el nervio en estudio se inserta suavemente en cada electrodo, mientras se aplica una ligera succión con las jeringas.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Aidley, D. *The physiology of excitable cells*. Third edition. Cambridge University Press. New York, U.S.A. 1989.
2. Austin, C. *Patrones de Reproducción*. La Prensa Médica Mexicana. México. 1982.
3. Bass, N.; Netsky, M. & Young, E. *Effect of neonatal malnutrition on developing cerebrum. II Microchemical and histologic study of myelin formation in the rat*. Arch. Neurol. 23: 303-313. 1970.
4. Bedi, K. *Undernutrition of rats during early life does not affect the total number of cortical neurons*. J. Comp. Neurol. 342(4): 596-602. 1994.
5. Benzon, H.; Strichartz, G.; Gisen, A.; Shanks, C.; Covino, B. & Datta, S. *Developmental neurophysiology of mammalian peripheral nerves and age-related differential sensitivity to local anaesthetic*. Br. J. Anaes. 61(6): 754-760. 1988.
6. Birren, J. & Wall, P. *Age changes in conduction velocity, refractory period, number of fibers, connective tissue, space and blood vessels in sciatic nerve of rats*. J. Comp. Neurol. 104(1): 1-15. 1956.
7. Bowe, C.; Johansson, C.; Hildebrand, C. & Evans, N. *Functional properties and nodal spacing of myelinated fibers in developing rat mental and sural nerves*. Dev. Brain Res. 79(2): 186-194. 1994.
8. Boyd, I. & Kalu, K. *Scaling factor relating conduction velocity and diameter for myelinated afferent nerve fibres in the cat hind limb*. Journal of Physiology. 289: 277-297. 1979.
9. Buchtal, F. & Rosenfalck, A. *Evoked action potentials and conduction velocity in human sensory nerves*. Brain Res. 3: 1-122. 1966.
10. Burgos, M. y Martínez, J. *La rata de laboratorio. Manual*. ENEP Iztacala. 1984.
11. Chatfield, P. O. & Lyman, C. D. *The effects of temperature on the ventral caudal nerve of the rat*. Amer. J. Physiol. 177: 183-186. 1954.
12. Chow, B. & Lee, C. *Effect of dietary restriction of pregnant rats on body weight gain of the offspring*. J. Nutr. 82: 10-18. 1964.
13. Clos, J. & Legrand, J. *Influence de la déficience thyroïdienne et de la sous-alimentation sur la croissance et la myélinisation des fibres nerveuses de la moelle cervicale et du nerf sciatique chez le jeune rat blanc*. Arch. Anat. Micr. Morph. Exp. 58: 339-345. 1969.
14. Cota, G. *Canales para iones en las membranas neuronales*. Ciencias. Especial No. 5: 10-22. 1991.
15. Eckert, R.; Randall, D. y Augustine, G. *Fisiología animal. Mecanismos y adaptaciones*. Tercera edición. Interamericana-McGraw Hill. España. 1992.
16. Fitzgerald, M. *The postnatal development of cutaneous afferent fibre input and receptive field in the rat dorsal horn*. J. Physiol. 364: 1-18. 1985.
17. Friede, R. & Samorajski, T. *Relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibers of vagus and sciatic nerves of mice*. J. Comp. Neurol. 130: 223-232. 1968.

18. Friede, R. *Control of myelin formation by axon caliber (with a model of the control mechanism)*. J. Comp. Neurol. 144: 233-252. 1972.
19. Gómez, F. *Desnutrición*. Cuadernos de desnutrición. 10(2): 3-14. 1987.
20. Gordon, M. *Fisiología animal: principios y adaptaciones al medio ambiente*. Compañía Editorial Continental. México. 1979.
21. Gramsbergen, A. & Westerga, J. *Locomotor development in undernourished rats*. Behav. Brain Res. 48 (1): 55-64. 1992.
22. Gundappa, G. & Desiraju, T. *Deviations in brain development of F2 generation on caloric undernutrition and scope of their prevention by rehabilitation: alterations in dendritic spine production and pruning of pyramidal neurons of lower laminae of motor cortex and visual cortex*. Brain Res. 456: 205-223. 1988.
23. Gutiérrez, R.; Boison, D.; Heinemann, U. & Stoffel, W. *Decompaction of CNS myelin leads to a reduction of the conduction velocity of action potentials in optic nerve*. Neurosci. Lett. 195(2): 93-96. 1995.
24. Guyton, A. y Hall, J. *Tratado de fisiología médica*. 9a. edición. Interamericana-McGraw Hill. México. 1996.
25. Handwerker, H.; Kilo, S. & Reeh, P. *Unresponsive afferent nerve fibres in the sural nerve of the rat*. J. Physiol. 435: 229-242. 1991.
26. Hahn, P. *Nutrition and metabolic development in mammals*. In: Human Nutrition, M. Winick (Ed.). Plenum Press. U.S.A. 1979.
27. Harding, J. & Johnston, B. *Nutrition and fetal growth*. Reprod. Fertil. Dev. 7(3): 539-547. 1995.
28. Harrison, L. *Fiber diameter spectrum of the motor fibers of rat sural nerve*. Exp. Neurol. 47: 364-366. 1975.
29. Hedley-White, E. & Meuser, C. *The effect of undernutrition on myelination of rat sciatic nerve*. Lab. Invest. 24(2): 156-161. 1971.
30. Honmou, O.; Felts, P.; Waxman, S. & Kocsis, J. *Restoration of normal conduction properties in demyelinated spinal cord axons in the adult rat by transplantation of exogenous schwann cells*. J. Neurosci. 16(10): 3199-3208. 1996.
31. Ishikawa, M.; Ohira, T.; Yamaguchi, N.; Takase, M.; Bertalanffy, H.; Kawase, T. & Toya, S. *Strength-duration curve of conductive spinal cord evoked potentials in cats*. Electroencephal. and Clin. Neurophysiol. 100(3): 261-268. 1996.
32. Jacobson, M. *Developmental neurobiology*. Third Edition. Plenum Press. New York, U.S.A. 1991.
33. Junge, D. *Nerve and muscle excitation*. Second edition. Sinauer Associates. U.S.A. 1981.
34. Kandel, E.; Schwartz, J. & Jessell, T. *Principles of neural Science*. Third Edition. Appleton & Lange. Connecticut. U.S.A. 1995.
35. Kirkpatrick, J. & Lawrence, S. *Axoplasmic flow in human sural nerve*. Arch. Neurol. 28: 308-312. 1973.
36. Krigman, M. & Hogan, E. *Undernutrition in the developing rat: effect upon myelination*. Brain Res. 107: 239-255. 1976.

37. Lawson, J.; Erjavec, J. y Madrigal, J. *Estrategias experimentales para el mejoramiento de la calidad en la industria*. Grupo Editorial Iberoamérica. México. 1990.
38. McLaren, D. *La nutrición y sus trastornos*. El Manual Moderno. México. 1983.
39. Mogyoros, I.; Kieman, M. & Burke, D. *Strength-duration properties of human peripheral nerve*. Brain 119(Pt.2): 439-447. 1996.
40. Montgomery, D. *Diseño y análisis de experimentos*. Grupo Editorial Iberoamérica. México. 1991.
41. Morgane, P.; Miller, M.; Kemper, T.; Stern, W.; Forbes, W.; Hall, R.; Bronzino, J.; Kissane, J.; Hawrylewicz, E. & Resnick, O. *The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat*. Neurosci. Biobehav. Rev. 2(3): 137-230. 1978.
42. Morgane, P.; Austin-LaFrance, R.; Bronzino, J.; Tonkiss, J. & Galler, J. *Malnutrition and the developing central nervous system*. In The Vulnerable Brain and Environmental Risks. Volume I: Malnutrition and Hazard Assessment, Robert L. Isaacson & Karl F. Jensen (Eds.). Plenum Press. U.S.A. 1992.
43. Morgane, P.; Austin-LaFrance, R.; Bronzino, J.; Tonkiss, J.; Díaz-Cintra, S.; Cintra, L.; Kemper, T. & Galler, T. *Prenatal malnutrition and development on the brain*. Neurosci. Biobehavioral Rev. 17: 91-128. 1993.
44. Nakanishi, T. & Forbes, N. *Motor fibers in rat sural nerve*. Exp. Neurol. 26: 433-435. 1970.
45. Nicholis, J.; Martin, R. & Wallace, B. *From neuron to brain. A cellular approach to the function of the Nervous System*. Third Edition. Sinauer Associates, Inc. U.S.A. 1992.
46. Peyronnard, J. & Charron, L. *Motor and sensory neurons of the rat sural nerve: a horseradish peroxidase study*. Muscle & Nerve. 5: 654-660. 1982.
47. Quirk, G.; Mejia, W.; Hesse, H. & Su, H. *Early malnutrition followed by nutritional restoration lowers the conduction velocity and excitability of the corticospinal tract*. Brain Res. 670: 277-282. 1995.
48. Raine, C. *Morphological aspects of myelin and myelination*. In Myelin, Pierre Morrell (Ed.). Plenum Press. U.S.A. 1977.
49. Rasminsky, M. *The effects of temperature on conduction in demyelinated single nerve fibers*. Arch. Neurol. 28: 287-292. 1973.
50. Rogart, R. & Ritchie, J. *Physiological basis of conduction in myelinated nerve fibers*. In Myelin, Pierre Morrell (Ed.). Plenum Press. U.S.A. 1977.
51. Schlaepfer, W. & F. Myers. *Relationships of myelin internode elongation and growth in the rat sural nerve*. J. Comp. Neurol. 147:255-266. 1973.
52. Segura, B. *Efecto de la desnutrición neonatal sobre las propiedades funcionales del músculo esquelético de la rata*. Tesis de Maestría. CINVESTAV, IPN. México. 1993.
53. Sima, A. *Studies on fibre size in developing sciatic nerve and spinal roots in normal, undernourished, and rehabilitated rats*. Act. Physiol. Scan. Supplementum 406. 1974a.
54. Sima, A. *Relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibres of ventral and dorsal roots and optic nerve in normal, undernourished and rehabilitated rats. An ultrastructural morphometric study*. Act. Physiol. Scan. Supplementum 410. 1974b.

55. Smart, J. & Dobbing, J. *Vulnerability of developing brain. VI. Relative effects of foetal and early postnatal undernutrition on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat.* Brain Res. 33: 303-314. 1971.
56. Stein, R. *Nerve and muscle. Membranes, cells and systems.* Plenum Press. U.S.A. 1980.
57. Stys, P. *Suction electrode recording from nerves and fiber tracts. A guide for in vitro studies in vertebrate neurobiology.* In Practical electrophysiological methods. H. Kettenman & R. Grantyn (Eds.). Wiley-Liss. New York, U.S.A. 1993.
58. Stys, P.; Ramson, B. & Waxman, S. *Compound action potential of nerve recorded by suction electrode: a theoretical and experimental analysis.* Brain Res. 546: 18-32. 1991.
59. Tapia, R. *Las células de la mente.* La Ciencia desde México 30. FCE/SEP. México. 1996.
60. Vabnick, I.; Messing, A.; Chiu, S.; Levinson, S.; Schachner, M.; Roder, J.; Li, C.; Novakovic, S. & P. Shrager. *Sodium channel distribution in axons of hypomyelinated and MAG Null Mutant Mice.* J. Neurosc. Res. 50: 321-336. 1997.
61. Waxman, S. *Integrative properties and design principles of axons.* Int. Rev. Neurobiol. 18: 1-40. 1975.
62. Waxman, S. *Conduction in myelinated, unmyelinated and demyelinated fibers.* Arch. Neurol. 34: 585-589. 1977.
63. Waxman, S. & Foster, R. *Development of the axon membrane during differentiation of myelinated fibers in spinal nerve roots.* Proc. R. Soc. Lond. [Biol.]. 209: 441-446. 1980.
64. Wiggins, R.; Miller, S.; Benjamins, J.; Krigman, M. & Morrell, P. *Myelin synthesis during postnatal nutritional deprivation and subsequent rehabilitation.* Brain Res. 107: 257-273. 1976.
65. Wiggins, R. *Myelin development and nutritional insufficiency.* Brain Res. Rev. 4: 151-175. 1982.
66. Willis, W. & Coggeshall, R. *Sensory mechanisms of the spinal cord.* Plenum Press. U.S.A. 1978.
67. Winick, M. *Human nutrition. 1 Nutrition pre and postnatal development.* Plenum Press. New York. 1979.
68. Wurtman, R. & Wurtman, J. *Nutrition and the brain. Volume 2: Control of feeding behavior and biology of the brain in protein-calorie malnutrition.* Raven Press. New York, U.S.A. 1977.