

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA



“Efectos de la desnutrición crónica sobre el
Potencial de Acción Compuesto (PAC), en
nervios motores de la rata

TESIS

Para obtener el título de biólogo presenta:

Rivera Marín Alejandro

Directora de tesis:

Dra.: Segura Alegría Bertha
México, 2015



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.

Agradecimientos:

A mi tutora la Dra. Bertha Alegría Segura por apoyarme incondicionalmente y no perder la fe en mí, por ser parte de mi formación académica y ser paciente y comprensible y dejarme conocerla en su faceta humana y no verla solo como un profesora si no como una amistad

A mis sinodales por tomarse el tiempo de leer este trabajo.

M. en C. Alfonso Reyes Olivera
Dra. Mónica Gonzales Isais
M. en C. Arcelia Rita del Castillo Rodríguez
M. en C. Héctor Montes Domínguez

A la Profesora Martha Salcedo por enseñarme a disfrutar las clases y hacerme reír con sus ocurrencias.

A la Profesora Margarita Canales la cual siempre ha enseñado a sus alumnos a avanzar y dar lo mejor

A la profesora Carmen Rodríguez Álvarez por enseñarme a tener pasión en la enseñanza

A La profesora Elvia Lucia Pavón por apoyarme, y ser muy considerada y amable

A la profesora Gabriela Favela por enseñarme a siempre participar y tener entusiasmo en mi carrera

Al profesor Héctor Montes por enseñarme que si se falla lo único que nos queda es aprender de nuestros errores y seguir avanzando

AL profesor Francisco López por hacer que tenga más vocación y amor a mi carrera

A mis amigos: Manuel por todas las estupideces que compartimos, Edwin por enseñarme a mejorar , Aldo por enseñarme a ser feliz, Edgar por su apoyo y amistad, Daniel por su amistad sincera, Eduardo por ser único , Emilio por ser como las mejores , gracias por pasar esto conmigo darme su amistad de todo corazón los quiero

A mi Padre ,Madre,hermano y hermana por darme siempre su apoyo y amor

Índice de Contenido:

	Resumen	5
1	Introducción	6
1.1	Clasificación de los axones	6
1.2	Clasificación de fibras nerviosas	7
1.3	Propiedades electrofisiológicas de los axones nerviosos periféricos	8
1.4	Actividad eléctrica de los nervios periféricos	10
2	Antecedentes	12
3	Objetivos	14
3.1	Objetivos generales	14
3.2	Objetivos particulares	14
4	Material y Métodos	14
5	Resultados	19
5.1	Peso corporal	19
5.2	Propiedades funcionales del PAC	19
6	Discusión	22
7	Conclusiones	23
8	Bibliografías	24

Índice de figuras y tablas:

Figura 1	Comunicación de nervios	6
Figura 2	Diagrama de flujo de la fase experimental	15
Figura 3	Sistema de registro del potencial de acción	17
Figura 4	Grafica del peso corporal	18
Figura 5	Grafica del voltaje umbral	19
Figura 6	Graficas del area del PAC en nervio PBST y Sural	20
Figura 7	Grafica de velocidad de conducción	21
Tabla 1	Clasificación de los axones que conforman un nervio periférico sensitivo	8

Resumen

La desnutrición crónica es una condición patológica inespecífica, sistémica y reversible en potencia, que resulta de la deficiente utilización de los nutrimentos por las células del organismo que se acompaña de variadas manifestaciones morfológicas relacionadas con diversos factores ecológicos, y que reviste diferentes grados de intensidad. Se trata, en la actualidad, de un problema mundial de salud. En México se encuentra aún presente hasta en el 17% de la población. Por lo cual es importante estudiar los daños causados por esta en la formación y desarrollo de los nervios. Estudios previos nos han demostrado que en el nervio sural (un nervio sensorial) la desnutrición afecta el desarrollo y formación del nervio, así como el área y las propiedades funcionales del PAC, debido que hay limitada información acerca de los efectos que produce la desnutrición crónica sobre cómo afecta la generación y la transmisión del impulso nervioso en nervios motores (PBST); por lo cual el presente trabajo el objetivo general fue conocer si las deficiencias nutricionales provocan alteraciones sobre las propiedades funcionales de los axones sensitivos (aférentes) y de los axones motores (eferentes). Para lo cual se realizó el experimento con ratas de 90 días postnatales de la cepa wistar, estas fueron divididas en 2 lotes el control y las sometidas a desnutrición, a las cuales se les sometió a una disección para extraerles el nervio PBST el cual fue colocado en una cámara de registro para registrar el potencial de acción, este posteriormente fue medido y analizado estadísticamente, esto nos mostró que hay diferencias significativas en peso corporal, pero no se encontraron diferencias significativas en las propiedades funcionales del PAC del nervio PBST. No obstante en los nervios sensitivos se observó que el área del PAC disminuye significativamente en los organismos desnutridos. Lo anterior nos permite sugerir que la desnutrición crónica afecta selectivamente a los nervios sensitivos, mientras que los motores no modifican sus propiedades funcionales.

1.-Introduccion

El Sistema Nervioso Periférico, está constituido por nervios, los cuales contienen numerosos axones de neuronas sensoriales y motoras. La función de éstos es comunicar, por medio de potenciales de acción tanto a los receptores sensoriales (localizados en la piel, en los músculos y en las vísceras) como a los órganos efectores (músculos y vísceras), con la médula espinal (Fig. 1).

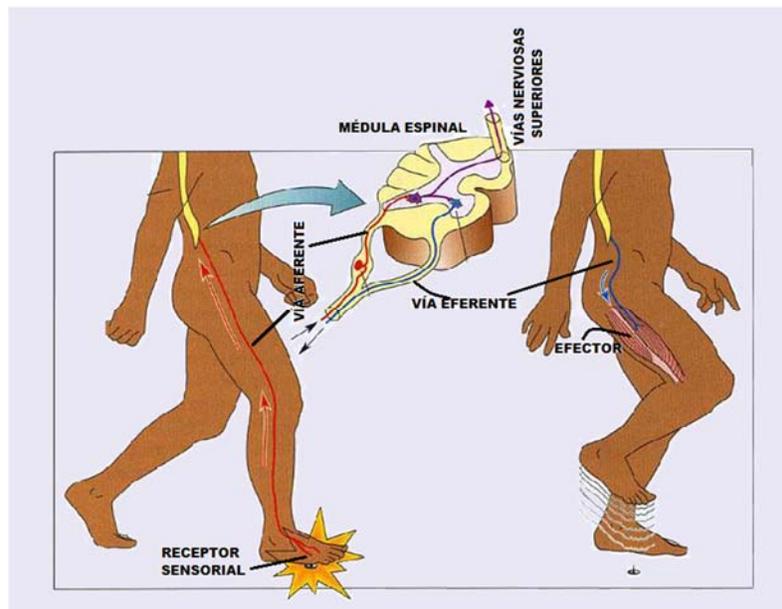


Figura 1. Los nervios periféricos comunican a los receptores sensoriales con la médula espinal, mediante las vías aferentes; y a ésta con los efectores, a través de las vías eferentes. Además la médula espinal envía y recibe información de centros nerviosos superiores (cerebro, cerebelo, tallo cerebral).

1.1 clasificación de axones

a. Los axones se han clasificado tomando en cuenta sus características histológicas, la estructura periférica que inervan y sus propiedades funcionales: Histológicamente se pueden clasificar en fibras miélicas y amielínicas; dependiendo de la presencia o ausencia de mielina respectivamente.

b. En cuanto a la clasificación de la estructura periférica que inervan o en que se originan, los nervios se dividen en cutáneos o sensoriales y en musculares o motores; los primeros son aquellos que provienen de receptores situados en la piel o en las vísceras; mientras que los musculares o motores son aquellos cuyos axones provienen de receptores situados en los músculos (por ejemplo: los husos musculares).

Además, existen otros parámetros de clasificación, por ejemplo el diámetro de las fibras (delgadas o gruesas), la velocidad de conducción y el tipo de información que transmiten (aférente o eférente); todos ellos relacionados con la capacidad de generar y conducir potenciales de acción (ver más abajo).

Tomando en consideración los parámetros antes mencionados, las fibras nerviosas se han clasificado en (Tabla 1):

1.2 Clasificación de fibras nerviosas

- **Fibras del grupo A α** , son fibras mielínicas “gruesas”, cuyo diámetro varía entre 13 y 20 μ m. Estas fibras provienen de husos musculares y órganos tendinosos de Golgi localizados en el músculo esquelético. Este tipo de fibras se encuentra exclusivamente en los nervios motores.
- **Fibras del grupo A β** , son fibras mielínicas cuyo diámetro varía entre 6 y 12 μ m. Proviene de receptores de tacto fino localizados en la piel y de receptores pilosos, así como de husos musculares.
- **Fibras del grupo A γ** , poseen un diámetro que varía entre 1 y 5 μ m. Proviene de receptores a la temperatura, del tacto grueso y de la presión profunda. También conducen el dolor punzante.

- **Fibras del grupo C**, son fibras delgadas cuyo diámetro es menor de 1 μ m y no presentan mielina; conducen sensaciones de dolor, picazón, temperatura y tacto grueso.

TABLA 1.- Clasificación de los axones que conforman un nervio periférico sensitivo. Compilada de Willis y Coggeshall, 1978; Stein, 1980; Guyton y Hall, 2001.

FIBRA CUTÁNEA	FIBRA MOTORA	DIÁMETRO	VEL. DE CONDUCCIÓN.	ESTRUCTURA. INERVADA
GRUPO A α	I	13-20 μ m	72-120 m/s	músculo
GRUPO A β	II	6-12 μ m	24-71 m/s	Piel, músculo
GRUPO A γ	III	1-5 μ m	6-23 m/s	piel
GRUPO C	IV	$< 1\mu$ m	0.5-5m/s	Piel, músculo

1.3 Propiedades electrofisiológicas de los axones nerviosos periféricos.

Estrechamente relacionadas con sus características morfológicas, las fibras nerviosas de los grupos antes mencionados, presentan propiedades funcionales que las distinguen entre sí, entre éstas las más relevantes son:

- **Umbral eléctrico de activación.**- El umbral eléctrico de activación de las fibras nerviosas varía en relación inversa con el diámetro de los axones, de tal manera que las fibras de los grupos A β y A γ tienen un umbral de activación considerablemente inferior (entre 10 y 20 veces menor) que el de las fibras C (Guyton y Hall, 2001). Esta propiedad ha sido utilizada en diversos estudios experimentales para activar de manera selectiva a los distintos grupos de axones periféricos.

- **Velocidad de conducción.**- Otra de las propiedades funcionales de las fibras nerviosas es la velocidad a la que conducen los potenciales de acción, la cual depende de:

A) el grosor del axón, debido a que las fibras nerviosas más gruesas presentan menor resistencia al flujo longitudinal de corriente, por lo cual la corriente iónica se desplaza con mayor rapidez a lo largo de una fibra gruesa que de una de pequeño diámetro.

B) la presencia de vainas de mielina alrededor del axón, permite incrementar la velocidad de conducción del impulso nervioso (Waxman, 1977; Rogart y Ritchie, 1977; Wilson y Kitchener, 1996; Guyton y Hall, 2001). Las fibras nerviosas mielínicas conducen el potencial de acción a mayor velocidad que las amielínicas debido a que la mielina actúa como un aislante eléctrico que impide la generación del potencial de acción en la membrana axonal, la cual se localiza por debajo de la región internodal, siendo los nodos de Ranvier los únicos sitios en donde se pueden regenerar los impulsos nerviosos, por lo que el potencial de acción se transmite en los axones “saltando” de un nodo de Ranvier a otro (“Conducción saltatoria”; Keynes y Aidley, 1985; Wilson y Kitchener, 1996; Guyton y Hall, 2001). Se ha demostrado experimentalmente que los cambios de potencial registrados en la membrana nodal son el resultado de corrientes iónicas, principalmente de sodio y de potasio, tal y como ocurre en los axones amielínicos (Dodge y Frankenhaeuser, 1958, 1959; Wilson y Kitchener, 1996) y que la velocidad de conducción en los axones mielínicos depende del grosor y del grado de compactación de las vainas de mielina, así como de la longitud del segmento internodal y de la amplitud del nodo, entre otras características (Waxman, 1977; Rogart y Ritchie, 1977; Guyton y Hall, 2001).

1.4 Actividad eléctrica de los nervios periféricos

La respuesta eléctrica de un nervio, producida por estímulos de intensidad umbral o supraumbral, se denomina **potencial de acción compuesto (PAC)**, y es el resultado de la suma de los potenciales de acción generados en cada uno de los axones que constituyen al nervio. Debido a la presencia de fibras nerviosas con diferente umbral de excitación eléctrica y con distinta velocidad de conducción, el registro del PAC de un nervio periférico puede presentar uno o varios componentes. Así, durante el registro del PAC en un nervio es factible observar dos componentes: el primero (**componente A**), resulta de la activación de axones con bajo umbral de excitación y posee una latencia de aparición muy breve. En cambio, el segundo componente (**componente C**), es provocado probablemente por la activación de fibras mielínicas de alto umbral (A δ) o por fibras amielínicas (fibras C), por lo que solo se registra cuando el axón es estimulado con pulsos de corriente con intensidad de alrededor de 10 veces la requerida para activar las fibras más excitables del primer componente. El componente C presenta una mayor latencia de aparición, ya que la velocidad de conducción de las fibras A δ o C, es considerablemente menor que la de las fibras A.

Cabe recordar que la vaina de mielina es producida por células gliales especializadas, los oligodendrocitos en el sistema nervioso central y las células de Schwann en el sistema nervioso periférico. En los axones que se encuentran rodeados por vainas de mielina, se han descrito las siguientes regiones: i) los nodos de Ranvier, son sitios donde la vaina de mielina se interrumpe, permitiendo el contacto de la membrana axonal con el líquido extracelular; ii) las regiones paranodal y yuxtaparanodal, ubicadas entre el nodo y el internodo, respectivamente, iii) el internodo, que corresponde a la región cubierta por la mielina y por lo tanto, eléctricamente aislada.

La presencia de numerosos canales de sodio, en los nodos de Ranvier, hace posible la conducción saltatoria del impulso nervioso (Rogart y Ritchie, 1977; Guyton y Hall, 2001), siendo este tipo de conducción, la base para la rápida conducción de la señal en los axones con mielina. Por otro lado, la velocidad de conducción depende del grosor de la vaina de mielina y de la distancia existente

entre dos nodos de Ranvier consecutivos (distancia intermodal; Brill, 1977); ambos parámetros presentan una relación lineal con el diámetro del axón.

Como ya se ha mencionado, en el sistema nervioso periférico la vaina de mielina es formada por las células de Schwann. Durante su desarrollo ontogénico, las células de Schwann derivan de la cresta neural (Joseph y cols, 2004;), de donde migran hacia los nervios periféricos (Billings-Gagliard y cols., 1974; Billings-Gagliard, 1977), ya en contacto con los axones nerviosos las células de Schwann proliferan, probablemente debido a que interactúan con sustancias producidas por el axón durante su crecimiento (Salzer y cols., 1980; Ratner y cols., 1984). La longitud inicial de todos los segmentos internodales en los axones mielinizados es constante (de aproximadamente 200 μ m). Durante el crecimiento del animal, el número de segmentos internodales no cambia; pero la longitud internodal se incrementa a medida que el nervio se alarga (Friede, 1973; Friede y cols., 1985).

En las fases iniciales del proceso de mielinización, la célula de Schwann rodea al axón dejando un canal (el mesaxón), abierto hacia el espacio extracelular (Jacobson, 1993). Entonces una prolongación de la célula de Schwann, semejante a una lengüeta, rodea al axón formando una espiral; posteriormente mediante un proceso de compactación, el citoplasma se ubica en dos regiones: una interna cerca del axón y otra externa en la cercanía del nodo de Ranvier (Jacobson, 1993, 1999). De modo que el axón queda rodeado de lamelas de mielina, constituidas principalmente por fosfolípidos, lo cual permite que la región intermodal actúe como un aislante eléctrico (Benjamin y Smith, 1984). Desde el punto de vista funcional, se ha relacionado el incremento gradual en la velocidad de conducción del potencial de acción compuesto, con el proceso de formación de la vaina de mielina (Vabnick y Shrager, 1998); sin embargo, el aumento en la velocidad de conducción de los axones depende también de las características intrínsecas de la misma vaina de mielina, por ejemplo, se sabe que mientras mayor es el grado de compactación de las lamelas de mielina es mayor la velocidad a la que se conduce el impulso nervioso (Gutierrez y cols, 1995), y que existe una dependencia directa entre la velocidad de conducción del potencial de acción y la

longitud del internodo (a mayor longitud internodal, mayor es la velocidad de conducción).

Otro factor que modifica la velocidad de conducción del potencial de acción es la densidad de los canales de sodio, ubicados en los nodos de Ranvier, ya que éstos participan directamente en la generación del potencial de acción.

Cabe señalar, que el desarrollo pre- y postnatal de los axones puede alterarse, si las condiciones ambientales son adversas para el organismo. Entre éstas destaca, las deficiencias alimentarias de la madre (durante la gestación y la lactancia) y de las crías (a partir del destete). Por tal razón diversos autores, se han interesado en estudiar los efectos provocados por una alimentación deficiente sobre el desarrollo ontogenético de los axones con mielina, tanto en el sistema nervioso central como en el periférico.

2. Antecedentes

En la actualidad se cuenta con numerosas evidencias que muestran las alteraciones que provoca la desnutrición sobre el desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC; ver: Morgane, 1978; Quirk y cols., 1995). En cambio, existe muy poca información sobre el posible efecto que produce una alimentación perinatal deficiente en calidad o cantidad, sobre el desarrollo postnatal del Sistema Nervioso Periférico (SNP). A este respecto, Clos y Legrand (1970) y Hedley-White y Meuser (1971) reportan que la restricción de alimento en la etapa postnatal reduce el grosor de la vaina de mielina en fibras del nervio ciático, lo cual podría indicar que el proceso de mielinización es alterado por la desnutrición.

Por otra parte, Sima (1974a) reporta una notoria reducción en el diámetro de los axones del nervio ciático de crías neonatales, cuyas madres fueron alimentadas durante los períodos de gestación y lactancia con la mitad del alimento proporcionado a los animales control. Este mismo autor (Sima, 1974 b) observó en ratas de 90 días, sometidas a desnutrición durante las etapas de gestación y lactancia, que las fibras nerviosas de las raíces dorsales y ventrales mostraban una disminución en su circunferencia y en el número de lamelas de mielina. Sin

embargo, los efectos de la desnutrición fueron revertidos parcialmente en las raíces ventrales, pero no en las raíces dorsales, cuando los animales se sometieron a una alimentación normal (en cantidad y calidad) a partir del día cero post-natal. La evidencia anterior, sugiere que la desnutrición producida durante los períodos de gestación y lactancia (desnutrición perinatal) provoca daños irreversibles en las fibras aferentes, mientras que las fibras eferentes o motoras presentan alteraciones que son parcialmente reversibles, en el caso de someter a los animales a un período de realimentación.

Desde el punto de vista electrofisiológico se ha reportado, que en la rata normal, es posible registrar los componentes de bajo umbral (componente A) y de alto umbral (componente C), desde el día del nacimiento (día cero postnatal), pero la cantidad de fibras que responden a la estimulación, así como la velocidad a la que se conduce el potencial de acción son reducidas a edades tempranas y se incrementan a medida que el animal crece (Fitzgerald, 1985). Estos mismos resultados se han obtenido en nuestro laboratorio; pero además hemos encontrado que el potencial de acción compuesto (PAC) de la rata macho, que ha sido sometida a desnutrición crónica, disminuye significativamente su área, desde el día ocho hasta el día 90 postnatales. Este resultado sugiere un cambio en el número de axones que responden a la estimulación supra-umbral. Por otra parte, el análisis histológico de los nervios de estos mismos animales mostró que el número de axones contenidos en el nervio sural (aferente), no se modifica en los animales sometidos a desnutrición crónica; pero si se encontró un decremento significativo en el grosor de la vaina de mielina, en los axones de éstos animales (Segura y cols; 2001). A partir de estos hallazgos, se propuso que las alteraciones morfológicas provocadas por la desnutrición, en los axones de las ratas desnutridas crónicamente, provocaron fallas en la transmisión del PAC. Esta hipótesis se fortaleció, porque al cuantificar la variabilidad en el área del PAC, encontramos que el nervio sural de los animales desnutridos presenta mayores fluctuaciones que las registradas en el mismo nervio de ratas macho control, característica asociada a la transmisión intermitente del potencial de acción (Vabnick y Shrager, 1998; Segura y cols; 2004).

Como puede observarse, existe una cantidad muy limitada de información acerca de los efectos que produce la desnutrición crónica sobre la generación y la transmisión del impulso nervioso los axones aferentes; pero se carece de información sobre los efectos provocados por la desnutrición crónica sobre las propiedades funcionales de los nervios periféricos eferentes; por lo que el presente trabajo se pretende conocer si las deficiencias nutricionales provocan alteraciones distintas sobre las propiedades funcionales de los axones sensitivos (aferentes) y de los axones motores (eferentes). Por tal motivo nos hemos planteado los siguientes objetivos:

3.-Objetivos

3.1Objetivo general

Establecer si la desnutrición crónica, afecta de manera diferencial a los sistemas aferentes y los eferentes.

3.2 Objetivos particulares

A. Determinar las posibles alteraciones provocadas por la desnutrición crónica sobre el área del PAC registrado en un nervio motor (PBST) de la rata de 90 días de edad postnatal.

B. Establecer sí la desnutrición crónica modifica la velocidad de conducción del PAC, registrado en el nervio PBST de la rata.

C. Comparar las alteraciones provocadas por la desnutrición crónica sobre los sistemas sensitivos y motores de la rata de 90 días de edad.

4.-Material y Métodos

Durante la realización de este trabajo se utilizaron ratas de la cepa Wistar, de 90 días de edad postnatal, que fueron sometidas a desnutrición crónica (desde la gestación hasta el día del experimento). Para ello, el Bioterio General del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), proporcionó un lote de hembras en edad reproductiva (entre 200 y 250 g de peso corporal, al inicio del experimento), que desde las dos semanas previas al apareamiento, se agruparon al azar, de la siguiente manera (fig. 2):

a) Grupo control; este grupo de ratas y sus crías tuvieron libre acceso al agua y al alimento (Formulab 5008, Lab Diet) durante toda la fase experimental

b) Grupo desnutrido; Desde tres semanas previas al apareamiento y durante los períodos de gestación y lactancia se alimentó a este grupo de ratas y sus crías con el 50% de la cantidad de alimento que, en promedio, ingieran las ratas hembras control (Bedi, 1994, Segura y cols., 2001).

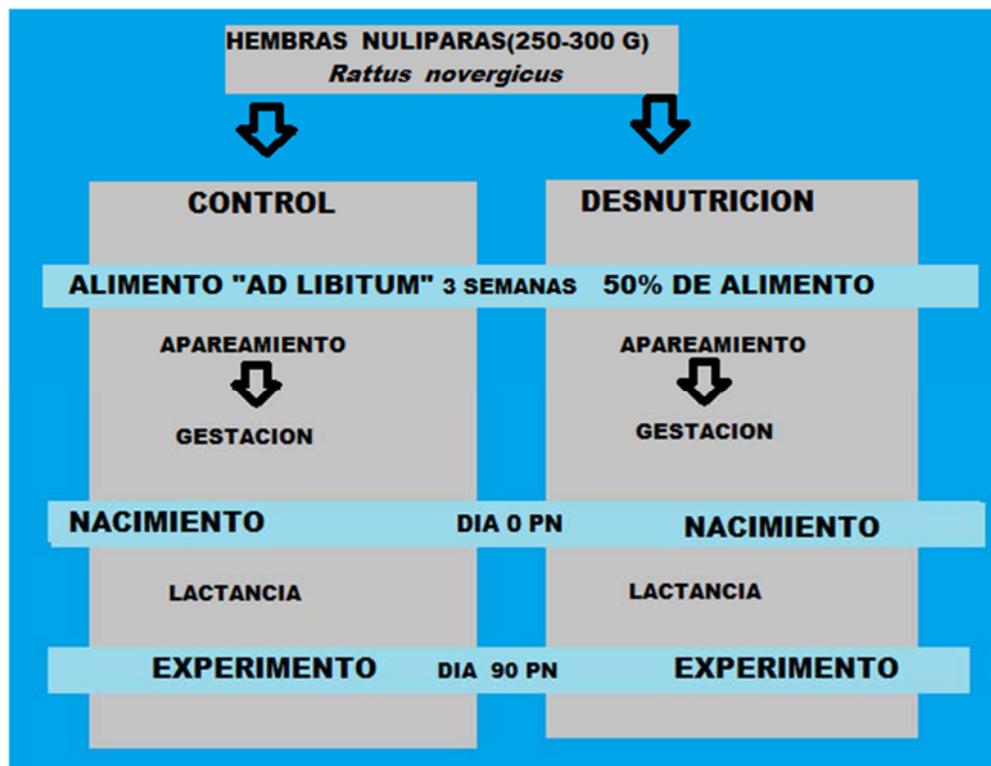


Figura 2. Diagrama de flujo del protocolo experimental utilizado en la presente tesis.

El número de crías por camada en ambos lotes, se ajustó a 9 el día del nacimiento (día cero postnatal) y fueron mantenidas junto a la madre hasta el destete (día 30 post-natal). Desde el día del destete hasta el día 90 postnatal a las crías fueron alimentadas con la misma dieta que sus madres (grupo control; alimentación *ad libitum*; grupo desnutrido, 50% del alimento consumido por los animales control).

El registro del potencial de acción compuesto (PAC), se efectuó en el nervio bíceps semitendinoso posterior (PBST) aislado, de ambas extremidades posteriores de los animales controles y desnutridos, se seleccionó éste nervio debido a que está formado tanto por axones sensitivos como motores, lo cual nos permitirá comparar las alteraciones provocadas por la desnutrición crónica sobre las vías sensitivas (aferentes) y motoras (eferentes).

El día del experimento, cada animal fue pesado y anestesiado con hidrato de cloral (400mg/Kg. peso), administrando vía intraperitoneal. El nervio PBST de ambas extremidades fue disecado y colocado en una cámara de registro con solución Krebs (NaCl 128 mM, KCl 3 mM, NaH₂ PO₄ 0.5 mM, CaCl₂ 1.5 mM, MgSO₄ 1 mM, NaHCO₃ 21 mM, Glucosa 30 mM; en agua desionizada a un pH de 7.45), previamente oxigenada y conservada a temperatura ambiente durante todo el experimento. Al final de la disección los animales fueron sacrificados mediante sobredosis de anestesia.

La estimulación eléctrica del nervio se llevó a cabo, introduciendo un extremo de éste a una micropipeta de succión (figura 3), conectada a un generador de pulsos (Digitimer tipo D 4030) con el cual se aplicaron pulsos de corriente, de amplitud y duración controlados (2 o 3 veces la intensidad umbral, 2 ó 3 x U, y 0.05 ms de duración). Para el registro del PAC se introdujo el otro extremo del nervio a otra micropipeta de succión (Stys y cols., 1991; Stys, 1993), conectada a un amplificador de alta ganancia (Grass modelo P5), que a su vez se conectó a un osciloscopio, Gould DSO 1624 y a una computadora mediante una interfase analogica-digital (Nacional Instruments, modelo BNC 2090), donde se almacenaron los datos para su posterior análisis (cálculo de amplitud y área del PAC). Tanto para el almacenamiento como para el análisis de los datos se utilizó

un programa elaborado ex profeso (en ambiente Lab View) para el laboratorio por los M en C. Enrique Velásquez y Porfirio Reyes.

Las sesiones experimentales se realizaron utilizando el siguiente protocolo experimental:

a. Obtención del área del PAC al incrementar gradualmente la intensidad del estímulo, con múltiplos de la intensidad umbral (1.2, 1.4,....3.0 X U); para ello se calculó el área bajo el potencial de acción.

b. Cálculo de la velocidad de conducción de los axones, mediante la fórmula $V = d / t$; donde V, es la velocidad de conducción del PAC generado por un pulso de corriente de intensidad 2xU; d, es la longitud del nervio aislado y t, representa la latencia al pico del potencial, con la cual se calcula la velocidad promedio de conducción.

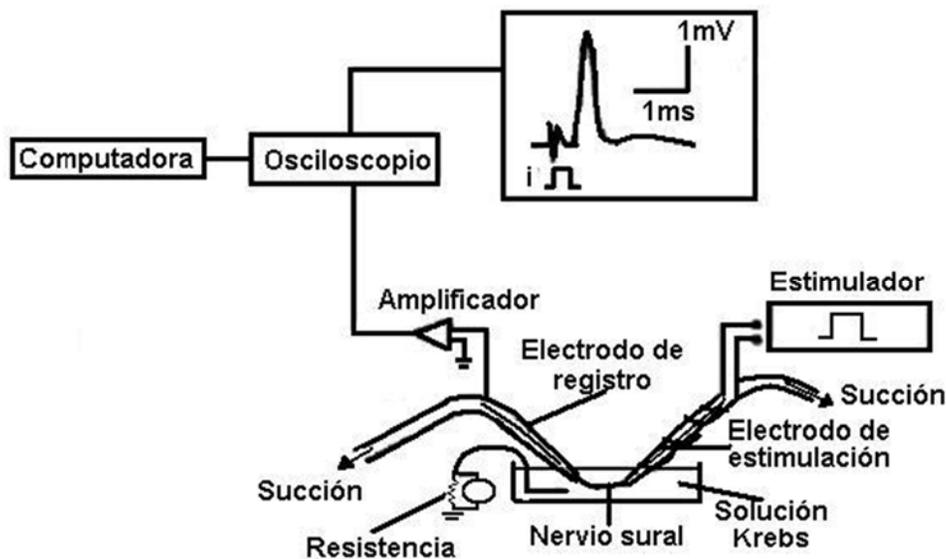


Figura 3.- Sistema de registro del potencial de acción compuesto, en el nervio sural de la rata en desarrollo, por medio de micropipetas de succión. La corriente aplicada al nervio se determinó a partir de la caída de voltaje observada a través de una resistencia eléctrica de 1000 Ω, colocada en el retorno a tierra del sistema de registro.

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante una prueba de t de Student, con el objeto de establecer el efecto de la desnutrición sobre el umbral, el área y la velocidad promedio de conducción del PAC (McKillup, 2005; Zar, 1974).

Así mismo, se compararon las alteraciones provocadas por la desnutrición crónica sobre las propiedades funcionales antes mencionadas, de los nervios periféricos sensitivos (sural, Segura y cols., 2001) y motores (PBST); para ello también se efectuaron comparaciones pareadas, mediante la prueba de t de Student.

5.-Resultados:

5.1Peso corporal:

Nuestros resultados muestran que la desnutrición crónica provocó una reducción en el peso corporal de los animales desnutridos (t de Student, $\alpha < 0.05$, $n = 5$) en comparación con el de las ratas control (fig. 4). Estos resultados concuerdan notablemente con los reportados en diversos estudios, en los que se han empleado diferentes procedimientos de desnutrición (Segura y cols., 2001).

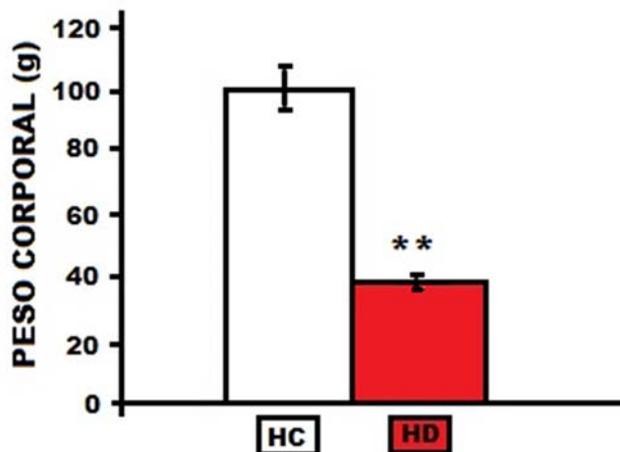


Figura 4. La desnutrición provocó una disminución significativa en el peso corporal de las hembras de 90 días de edad, respecto de las ratas control de la misma edad (t de Student, $\alpha < 0.05$). Cada barra representa el promedio de 5 animales; las líneas verticales corresponden al error estándar de la muestra.

5.2 Propiedades funcionales del PAC

El umbral de activación del PAC es la intensidad mínima de corriente que genera una respuesta del nervio en estudio. Esta respuesta corresponde a los potenciales de acción de los axones más excitables. En el caso del nervio PBST, el umbral de activación no mostró diferencias significativas en los organismos desnutridos, comparativamente con los controles (fig. 5).

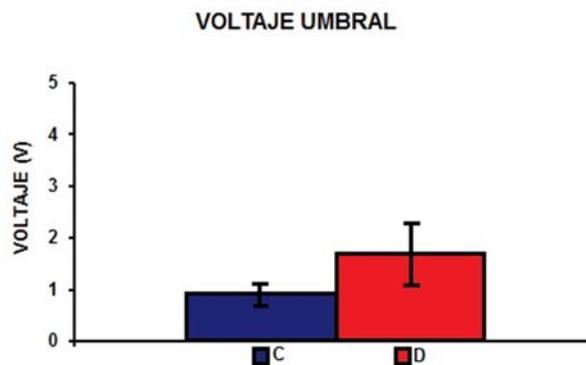


Figura 5. La desnutrición crónica no modificó la intensidad de corriente necesaria para provocar el PAC, en el nervio PBST. Cada barra el promedio de 5 animales; las líneas verticales corresponden al error estándar de la muestra.

Por otra parte, el área del PAC, registrado en el nervio PBST, no mostró diferencias significativas entre el lote control y el sometido a desnutrición crónica (fig. 6). Este resultado difiere del reportado previamente para el nervio sural de ratas sometidas a desnutrición crónica, ya que este nervio sensitivo mostró una reducción significativa en el área del PAC de animales desnutridos (Segura y cols. 2001). Existen reportes previos en los que se observó que los axones que constituyen la raíz dorsal de la médula espinal (nervios sensitivos), presentan un

decremento en su diámetro y en el grosor de su vaina de mielina (Sima; 1974); mientras que los axones que conforman la raíz ventral de la médula espinal, que inervan estructuras motoras, no sufren cambios histológicos como consecuencia de la desnutrición. Este resultado nos permite suponer que los axones que conforman el nervio PBST de los animales desnutridos crónicamente, no alteran sus características histológicas, respecto del mismo nervio motor de organismos control y que por tal razón las propiedades funcionales (generación y conducción del potencial de acción), de dicho nervio serán similares en los lotes control y desnutrido.

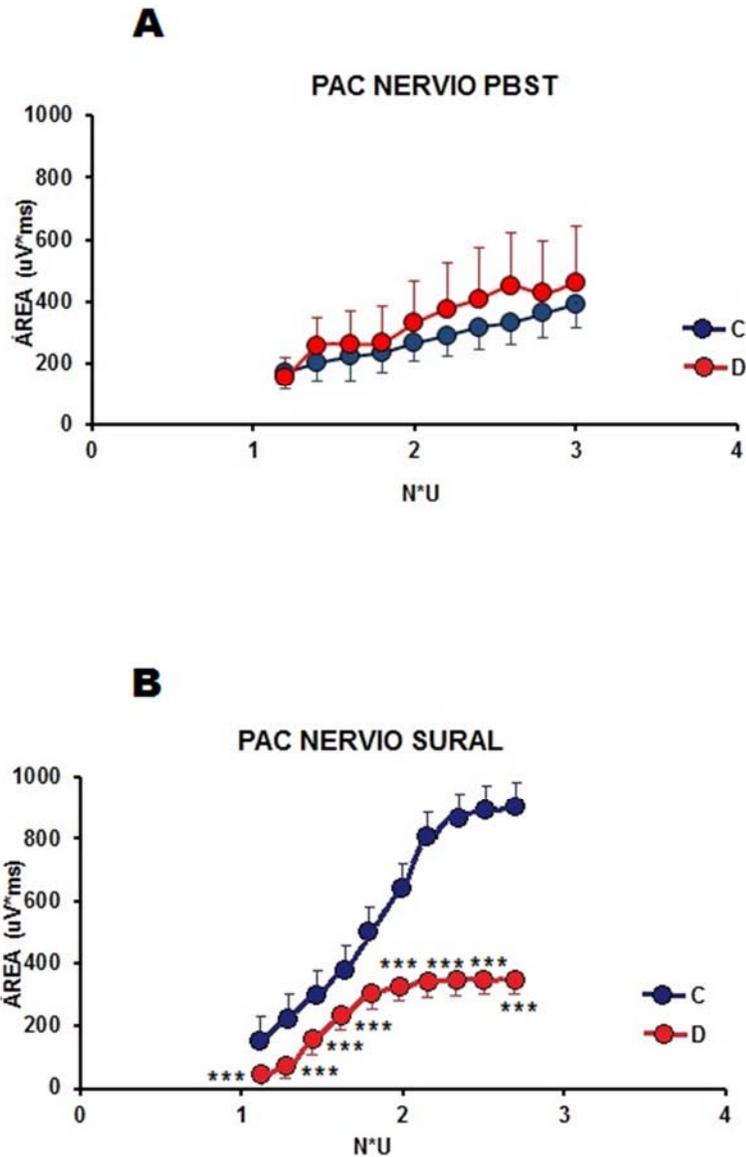


Figura 6. La desnutrición crónica no provocó cambios significativos en el área del PAC, registrado en el nervio PBST de ratas de 90 días de edad postnatal (panel A); mientras que ésta se redujo significativamente en el nervio sural (panel B). Los círculos azules representan a los animales control y los rojos a los desnutridos, n=9 en ambos grupos. Las líneas verticales representan la desviación estándar, los asteriscos representan diferencias significativas (t de Student, $p < 0.01$).

No obstante, el área del PAC, registrado en el nervio PBST de las ratas desnutridas presenta mayor variabilidad que la obtenida en el mismo nervio de animales control (t de Student, $p < 0.05$; fig. 6A), lo cual podría indicar que los

axones que constituyen los nervios de animales desnutridos presentan fallas frecuentes en la conducción del potencial de acción (Segura y cols., 2004).

En cuanto a la velocidad de conducción, encontramos que los nervios de las ratas desnutridas presentaron una disminución significativa respecto de los nervios de animales control (t de Student, $p < 0.05$). Esto significa que probablemente los axones de los nervios desnutridos tienen un diámetro menor al de los contenidos por los nervios control (fig. 7). Sin embargo, para corroborar esta hipótesis, es necesario efectuar cortes histológicos del nervio PBST con el objeto de cuantificar el diámetro de sus axones y el grosor de la vaina de mielina.

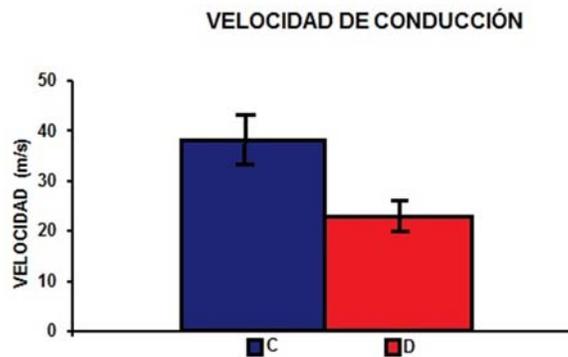


Figura 7. La velocidad de conducción del PAC, disminuye significativamente en el nervio PBST de las ratas desnutridas crónicamente. Cada barra representa el promedio de 5 animales; las líneas verticales indican la desviación estándar;* indica diferencias significativa (t de Student, $p < 0.05$).

6.-Discusión:

Estudios previos han mostrado que la descendencia de madres desnutridas (durante periodos de gestación y lactancia), muestra una reducción significativa en su peso corporal (desde el nacimiento hasta la edad adulta; Morgane y Cols.,1992; Segura y Cols., 2001); así mismo se ha establecido que las características morfológicas y las propiedades funcionales de los nervios sensitivos, tales como el grosor de la vaina de mielina y el área del PAC, se reducen significativamente en los organismos desnutridos (Segura y Cols.,2001).

Sin embargo, en el presente trabajo hemos encontrado que los nervios motores no muestran alteraciones significativas en el área del PAC, registrado en el nervio PBST de la rata. Este hallazgo puede interpretarse en el sentido de que los nervios motores presentan una resistencia selectiva a la desnutrición. Esta resistencia selectiva posiblemente está relacionada con el papel tan importante que tienen los nervios motores con el despliegue de pautas motoras, que le permiten al organismo desplazarse de un lugar a otro para adquirir su alimento, huir de sus depredadores, reproducirse, etc. En general, los resultados obtenidos en esta investigación nos permiten sugerir que la resistencia de los nervios motores a los daños provocados por la desnutrición, constituye un proceso de adaptación, que permite que los animales con deficiencias alimentarias crónicas, compitan con organismos bien nutridos. No obstante, los nervios motores procedentes de animales desnutridos presentaron una mayor variabilidad en el PAC, lo podría relacionarse con la transmisión intermitente de los potenciales de acción individuales, como fue reportado por Segura y cols. (2004). Por otra parte, tal transmisión intermitente guarda una estrecha relación con la organización deficiente de la vaina de mielina que rodea a los axones, presentes en el nervio PBST de las ratas desnutridas. Entre estas alteraciones podemos mencionar la disminución en el grosor de la vaina de mielina (Clos y Legrand, 1970; Hedley-White y Meuser, 1971); el número de lamelas que rodean a los axones (Sima, 1974) y posiblemente la deficiencia en la síntesis de los componentes de mielina y la longitud de los internodos (Wysacki y Segal, 1972;); pero para probar esta hipótesis es necesario realizar cortes histológicos y cuantificar el grosor de la vaina de mielina y la longitud de los internodos.

7.-Conclusiones:

La desnutrición crónica:

1.-Produjo la reducción significativa del peso corporal de la rata con 90 días de edad postnatal.

2. El umbral de activación de las fibras más excitables, no presentó alteraciones significativas en los nervios de animales desnutridos.

3.-No altero el área del PAC, registrado en el nervio PBST de la rata, lo cual posiblemente se relacione con la preservación de las funciones motoras necesarias para la supervivencia del animal.

4.-Incrementó la variabilidad de la respuesta, lo cual posiblemente este asociado con un proceso de mielinización deficiente, se hace necesario efectuar cortes histológicos y medir el grosor de la vaina de mielina y la longitud del internodo

•

- **Bibliografía:**

- Bedi, K. S., (1994). Undernutrition of rats during early life does not affect the total number of cortical neurons. *J. Comp. Neurol.* 342: 596 – 602.
- Benjamin, J. A. y Smith, M. E., (1984). Metabolism of myelin. In: Morell, P. (Ed). *Myelin*. Plenum. New York. Pp. 225-258.
- Billings-Gagliard, S., (1977). Mode of locomotion of Schwann cells migrating in a vivo. *Am. J. Anat.* 150:73-88.
- Billings-Gagliard, S; Webster, H de F. y O' Connell, M. F. C., (1974). In vivo and electron microscopic observations on Schwann cell in developing tadpole nerve fibers. *Am. J. Anat.* 141: 375-392.
- Brill, J. E. (1977). Age changes in conduction velocity, refractory period, number of fibres, connective tissue space and blood vessels in sciatic nerve of rats. *The journal of comparative neurology.* 104(1): 1-16.
- Clos, J. y Legrand, J., (1970). Influence de la deficiencia thyroidienne et de la sous alimentation sur la croissance et le myélisation des fibres nerveuses du nerf sciatique chez le jeune rat blanc. Étude au microscope electronique. *Brain Research* 22: 285-297.
- Dodge, F. A. y Frankenhaeuser, B., (1958). Membrane currents in isolated frog nerve fibre under voltage clamp conditions. *J Physiol (Lond.)* 143: 76–90.
- Dodge, F. A. y Frankenhaeuser, B., (1959). Sodium currents in the myelinated nerve fibre of *Xenopus laevis* investigated with the voltage clamp technique. *J Physiol (Lond.)* 148: 188–200.
- Fitzgerald, M., (1985). The postnatal development of cutaneous afferent fiber input and receptive field in the rat dorsal horn. *J. Physiology.* 364: 1-18.
- Friede, R. L; (1973). Mechanism of myelin sheath expansion. *Prog. Brain Res.* 40: 425:436.
- Friede, R. L; Brzoska, J. y Hartmann, U., (1985). Changes in myelin sheath thickness and internode geometry in the rabbit phrenic nerve during growth. *J. Anat. (Lond).* 143: 103-113.
- Goldspink, G. y Ward, P., (1979). Changes in rodent muscle fibre Types during postnatal growth, undernutrition and exercise. *J. Physiol. (Lond),* 296: 453-469.

- Gutierrez, R; Boison, D; Heineman, O. y Stoffel, W., (1995). Decompaction of central nervous system myelin leads to a reduction of the velocity of action potential in optic nerve. *Neurosc. Letters* 195: 93 – 96.
- Guyton, C. y Hall, E., (2001). *Tratado de Fisiología Medica*. Mc Graw Hill. 10a Ed.
- Hahn, P. (1979), Nutrition and metabolic development in mammals. In: *Human Nutrition*, M Winick (Ed.). Plenum Press. U.S.A.
- Harrison, L. M., (1975). Fiber diameter spectrum of the motor fibers of rat sural nerve. *Exp. Neurol.* 47: 364 – 366.
- Hedley – Whyte, E. T. y Meuser, C. S., (1971). The effect of under nutrition of myelination of rat sciatic nerve. *Laboratory Investigation*.p.p 120-128
- Jacobson, M., (1993). *Developmental neurobiology*. Plenum Press. New York and London. p.p. 163 – 21.
- Jacobson, M, (1999). Neurite outgrowth traced by means of horseradish peroxidase inherited from neuronal ancestral cell in frog embryos. *Dev. Biol.* 110: 102-113.
 - Joseph N M., Mukouyama Y, Mosher JT, Jaegle M, Crone S A, Dormand EL, Lee KF, Meijer D, Anderson DJ, and Morrison SJ (2004). Neural crest stem cells undergo multilineage differentiation in developing peripheral nerves to generate endoneurial fibroblasts in addition to Schwann cells . *Development* 131, 5599-5612
- Keynes, A. M. y Aidley, D. J., (1985). *Nerve and Muscle*. Cambridge Univ. Press. Cambridge p.p.1- 10.
- McKillup, S., (2005). *Statistics Explained. An Introductory Guide for Life Scientists'* Cambridge University Press. ISBN 0-5218-3550.
- Morgane, P. J; Austin-LaFrance, R. y Bronzino, J., (1992). Malnutrition and the developing nervous system. In: Isaacson, R; Jensen, K. Eds. *The vulnerable brain and environmental risks, vol. I Malnutrition and hazard assessment*. New York: Plenum Press 3-44.
- Morgane, P. J; Miller, M; Kemper, T; Stein, W; Forbes, W; Hall, R; Bronzino, J; Kissane, J; Hawrylewicz, E. y Resnick, O., (1978). The effects of protein malnutrition on the develop. *New York* 210- 118
- Quirk, G. J; Mejia, W. R; Hesse, H. y Su, H., (1995). Early malnutrition followed by nutritional restoration lowers the conduction velocity and excitability of the corticospinal tract. *Brain research.* 670: 272 – 289.

- Ratner, N; Glaser, L. y Smith, M. E., (1984). PC12 cells as a source of neurite-derived cell surface mitogen which stimulates Schwann cells division. *J. Cell. Physiol.*98:1150-1155.
- Rogart, R. B. y Ritchie, J. M., (1977). Physiological basis of conduction in myelinated nerve fibers. In Morell, P. (Ed.) : *Myelin* (New York, London: Plenum Press), p.p. 117 – 159
- Salzer, J.L; Williams, A. K; Glaser, L. y Bunge, R. P., (1980) Studies of Schwann cell proliferation: II Characterization of the stimulation and specificity of the response to a neurite membrane fraction. *J. Cell.Biol*, 84:753-766.
- Segura, B; Guadarrama, J. C; Gutiérrez, A. L.; Merchant, H; Cintra, L. y Jiménez, I., (2001). Effect of perinatal food deficiencies on the compound action potential evoked in sensory nerves of developing rats. *Nutr. Neurosc.* 4: 475 – 488.
- Segura, B; Guadarrama, J; C; Pratz, G; Mercado, V; Merchant, H; Cintra, L. y Jiménez, I., (2004). Conduction failure of action potentials in sensory sural nerves of undernourished rats.
- Sima, A., (1974 a). Studies on fiber size in developing sciatic nerve and spinal roots in normal undernourished and rehabilitated rats. *Acta Physiologica Scandinavica,Supplementum*.406:5- 55.
- Sima, A., (1974 b). Relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibers of ventral and dorsal roots and optic nerve in normal, undernourished and rehabilitated rats. *Acta Physiologica Scandinavica, Supplementum*. 410: 1 – 38.
- Stein, R., (1980). *Nerve and Muscle. Membranes cell and systems*. Plenum press. USA.
- Stys, P. K; Ranson, B. R. y Waxman, S. G., (1991). Compound action potential of nerve recorded by suction electrode: a theoretical and experimental analysis. *Brain Res.* 546: 18-32.
- Stys, P., (1993). Suction electrode recording from nerves and fiber tracts. A guide for in vitro studies in vertebrate neurobiology. In *Practical electrophysiological methods*. H Kettenman y R Grantyn (Eds). Wiley-Liss New York, U.S.A..
- Vabnick, I. y Shrager, P., (1998). Ion channel redistribution and function during development of the myelinated axon. *J. Neurobiol.* 37(1): 80-96.
- Waxman, S. G., (1977). Conduction in myelinated, Unmyelinated, and demyelinated fibers. *Arch. Neurol.* 34: 585 – 589.

- Wilson, P. y Kitchener, P. D., (1996). Plasticity of cutaneous primary afferent projections to the spinal dorsal horn. Prog. Neurobiol. 48: 105 – 129.
- Willis, W. D. y Cogesshall, R. E., (1978). Sensory mechanisms of the spinal cord, (New York: Plenum press), p.p.: 9 – 15
- Wysacky ,S. y Segal ,(1972) Influence of Thyroroid Hormones on Enzyme Activities of Myelinating Rat Central -Nervous Tissues Department of BiochemistryUniversity of Western Australia , Nedlands pp. 170-188
- Zar, J. H., (1974). Biostatistical Analysis, Prentice Hall., Englewood Cliffs, New Jersey. p.p. 121 – 124.