



# Universidad Nacional Autónoma de México

---

Facultad de Ciencias

Departamento de Biología

"EFECTOS DE LA DESNUTRICION PROTEINICA PRE Y POSNATAL  
EN LAS CELULAS NO PIRAMIDALES DE LA CORTEZA VISUAL DE  
LA RATA."

TESIS DE POSTGRADO

Que para obtener el título de

DOCTOR EN CIENCIAS ( BIOLOGIA )

P r e s e n t a

SOFIA YOLANDA DIAZ MIRANDA

México, D. F.

1985



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.

R E C O N O C I M I E N T O

EL PRESENTE TRABAJO DE TESIS  
SE REALIZÓ EN EL DEPARTAMENTO  
DE FISIOLÓGIA DEL INSTITUTO DE  
INVESTIGACIONES BIOMEDICAS,  
UNAM, MÉXICO, D.F.

## AGRADECIMIENTOS

A LOS DRs. MANUEL SALAS Y PABLO PACHECO POR SU ORIENTACIÓN EN MI CARRERA DE INVESTIGACIÓN.

A LOS DRs. HORACIO MERCHANT, FRUCTUOSO AYALA, J.M. CALVO Y A LAS DRAS. ELVIRA ESTRADA, LUZ MA. LÓPEZ DE LA ROSA, MA. LUISA FANJUL Y ROSALINDA GUEVARA, POR LA REVISIÓN Y COMENTARIOS AL MANUSCRITO.

EN ESPECIAL A LOS DRs. THOMAS KEMPER Y P.J. MORGANE, POR LAS FACILIDADES PRESTADAS EN SUS LABORATORIOS, DEL BOSTON CITY HOSPITAL Y DE LA WORCES TER FOUNDATION FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY, SITIOS EN LOS QUE SE ELABORÓ PARTE DEL MATERIAL HISTOLÓGICO UTILIZADO EN LA PRESENTE TESIS.

A LA SRA. MERCEDES DEL POZO Y A LA SRITA, BLANCA HUERTA, POR SU EXCELENTE TRABAJO DE MECANOGRAFÍA.

D E D I C A T O R I A

A MI ESPOSO LEÓN Y

A MI HIJO AUHITZ.

# I N D I C E

RESUMEN.....	I
INTRODUCCION	
ANTECEDENTES MORFOLÓGICOS Y ESTRATIFICACIÓN DE LA NEOCORTEZA.....	1
ESTRATIFICACIÓN NEOCORTICAL EN MAMÍFEROS.....	2
ORGANIZACIÓN DEL AREA VISUAL DE LA RATA ADULTA.....	3
DESARROLLO MORFOLÓGICO FUNCIONAL DE LA CORTEZA.....	5
DESARROLLO DE LA ESTRATIFICACIÓN NEO- CORTICAL Y DE LAS CÉLULAS PIRAMIDALES.	6
ESTÍMULOS SENSORIALES Y CRECIMIENTO DE NEURONAS PIRAMIDALES EN LA NEOCORTEZA.	7
CARACTERÍSTICAS Y DESARROLLO DE LAS NEURONAS NO PIRAMIDALES DE LA NEO- CORTEZA.....	8
ORIGEN DE LAS CÉLULAS NO PIRAMIDALES EN LA NEOCORTEZA DE LA RATA .....	9
DESNUTRICIÓN Y DESARROLLO DE LA NEO - CORTEZA EN LA RATA Y EL RATÓN.....	12
INTERACCIÓN ENTRE LA DESNUTRICIÓN Y EL SISTEMA ENDÓCRINO.....	14
DESNUTRICIÓN Y DESARROLLO DE LAS CÉLULAS PIRAMIDALES.....	15
DESNUTRICIÓN Y DESARROLLO SINÁPTICO...	16
EFECTOS DE LA DESNUTRICIÓN SOBRE LAS CÉLULAS NO PIRAMIDALES.....	17
DESNUTRICIÓN Y PRODUCCIÓN DE AMINAS BIOGÉNICAS.....	19

MATERIAL Y METODOS.....	22
RESULTADOS.....	29
DISCUSION	
EFECTOS DE LA DESNUTRICIÓN SOBRE LAS CÉLULAS NO PIRAMIDALES.....	39
DESNUTRICIÓN Y DESARROLLO DEL SNC.....	42
EFECTOS DE LA DESNUTRICIÓN POSNATAL EN EL DESARROLLO NEURONAL CORTICAL.....	45
EFECTOS DE LA DESNUTRICIÓN POSNATAL Y LA REHABILITACIÓN NUTRICIONAL EN EL SNC.....	48
EFECTOS DE LA DESNUTRICIÓN SOBRE LAS AMINAS BIOGÉNICAS.....	49
CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS E INTERAC- CIONES DE LAS CÉLULAS NO PIRAMIDALES DE LA IV CAPA CORTICAL.....	52
CONCLUSIONES.....	55
REFERENCIAS.....	58

## RESUMEN

En la presente tesis, se hace una breve revisión - histórica de los distintos estudios de la corteza cerebral en los mamíferos y de su organización macroscópica y citoarquitectural, con particular énfasis al estudio del área 17 de la corteza visual. Se hace una descripción detallada de su ubicación en el cerebro de la rata, así como su desarrollo y diferenciación celulares. Por otra parte se hace referencia a los efectos de la desnutrición sobre estructuras nerviosas con -- distinto grado de desarrollo y se hace una relación comparativa entre las células piramidales y las no piramidales. En estas últimas, se fundamenta la hipótesis del presente trabajo, la cual se refiere al distinto grado de desarrollo neuronal, de los patrones celulares particulares de éstas células; los cuales son afectados de manera diferente por la desnutrición pre y posnatal. Para probar que la desnutrición tiene efectos distintos en los diferentes parámetros celulares, dentro de - ellos, la densidad de las espinas dendríticas. Se diseñó el - experimento empleando desnutrición pre y posnatal y utilizando dietas hipoproteínicas e isocalóricas conteniendo distinto porcentaje de proteínas. En los animales testigo, se utilizó una dieta con 25% de caseína y en los desnutridos, dietas con 8% y 6% de la misma. El material histológico se obtuvo de ratas macho de tres distintas edades, 30, 90 y 220 días y se procesó con técnicas histológicas específicas, Nissl y Golgi rápido. Se diseñó el estudio morfométrico comparativo de paráme-- tros celulares, dentro de los que se incluyeron; el eje mayor y menor del soma, el número de ramas, la extensión lineal de - las mismas y el número de espinas dendríticas así como el diá- metro de las ramas. Estas mediciones se realizaron en células no piramidales de 2 variedades: espaciadamente espinosas y espinosas y en tres distintos tipos celulares: multipolares, bi- ramificadas y bipolares. Se establecieron comparaciones entre

los animales testigos y los desnutridos en cada parámetro celular y en cada tipo celular estudiado; así como relaciones entre las edades, se discuten los cambios producidos por la desnutrición, así como su relación con la edad. Se concluye que la desnutrición produce efectos en el peso y en la talla corporal, y que ambas dietas hipoproteínicas tienen diferentes efectos en algunos parámetros de las células no piramidales, que se acentúan más en un tipo que en otro. Así por ejemplo la dieta de 8% tiende a incrementar el número de dendritas de las células multipolares espinosas, en tanto que la dieta 6% las reduce así como el número de espinas, el diámetro y la extensión lineal, particularmente a la edad de 220 días. Por otra parte en los animales testigos, se presenta un crecimiento progresivo de parámetros celulares, mientras que en los desnutridos no se presenta. Una de las posibles implicaciones funcionales importantes de éstas células, es que poseen distintas aminas biogénicas, por lo que los cambios morfológicos observados en el presente estudio, revelan la gran plasticidad del área 17 visual en la rata para responder a los cambios ambientales tales como la desnutrición. Así mismo, estos cambios producidos por la desnutrición perinatal, interfieren con los procesos de migración y desarrollo de estas células y en fenómenos fisiológicos complejos del tipo de la percepción, la actividad visuomotora y otras actividades plásticas integradas a nivel de ésta área visual, las cuales pueden sufrir diverso grado de alteración como resultado de la desnutrición severa.

## INTRODUCCION.

### Antecedentes Morfológicos y Estratificación de la Neocorteza.

La corteza cerebral de los mamíferos es una de las estructuras del Sistema Nervioso Central (SNC), más importantes para la regulación de la mayoría de los patrones de conducta que relaciona a los organismos con su medio ambiente. Para la mejor comprensión de la forma como los elementos finos específicos neuronales procesan la información proveniente del mundo exterior permitiendo la percepción, la formación de imágenes y otros procesos cerebrales, es imprescindible el ubicar y describir anatómicamente a estos elementos.

Desde los estudios clásicos de Cajal (1911) se sabe que la corteza cerebral, posee diversas áreas dentro de las cuales es posible reconocer características morfológicas singulares del substrato neural. Durante las dos primeras décadas del presente siglo, se dió gran énfasis al estudio de la estratificación de la corteza y por mucho tiempo los diagramas que se construyeron acerca de ella, sirvieron como prototipos para el estudio de la parcelación de la corteza cerebral en el hombre y en algunos mamíferos. Sin embargo, no fué sino hasta los trabajos de Lorente de Nó (1949), cuando surgió -

ya un plan sistematizado de la estratificación del isocortex (cortezas parietal, temporal y occipital) dividiéndose en dos láminas: una externa formada por 5 capas. Capa I plexiforme, capa II de pirámides pequeñas, capa III de pirámides medianas, capa IVa de pirámides estrelladas, capa IVb de células estrelladas y la lámina interna dividida en: capa V de pirámides grandes y profundas y la capa VI de células grandes y con pocas espinas. En este esquema modificado en la actualidad por diversos estudios, se toma en cuenta la funcionalidad y la organización de la corteza.

Los estudios cualitativos de Cajal y de Lorente de Nó, enriquecidos por los hallazgos cuantitativos de la morfología neuronal, tales como los trabajos de Sholl (1953); Mitra (1955); Bok (1956); Valverde (1967); Rufz-Marcos y Valverde (1969); Marín-Padilla y col., (1969); Peters (1981), y Rufz-Marcos (1984), han aportado información suficiente para caracterizar morfológicamente a los elementos neuronales corticales, así como para juzgar acerca de su número aproximado en distintos campos y capas corticales.

#### Estratificación Neocortical en Mamíferos.

Desde el punto de vista funcional, la estructura general que muestra la corteza cerebral del hombre, del mono, del gato y la rata consta de seis capas que contienen 4 tipos

celulares importantes: a) células cuyos axones descendentes alcanzan la substancia blanca y continúan fuera de la corteza convertidos en fibras de proyección o de asociación, b) células de axon corto ramificadas cerca del cuerpo celular y frecuentemente asociadas a los plexos dendríticos (Golgi Tipo II), c) células con axones ascendentes y ramificados en una o en diferentes estratos corticales, y d) células con axones horizontales. Las neuronas corticales establecen conexiones sinápticas con fibras aferentes provenientes del tálamo, fibras comisurales de asociación y fibras intracorticales.

Globus y Scheibel (1967a) estudiando la corteza del conejo describieron las neuronas corticales, reconociendo el significado de sus organelos y haciendo una clasificación con base en tres atributos: a) el tamaño y la forma de sus dendritas, b) la presencia o ausencia de espinas dendríticas, y c) los axones extra e intracorticales. Los autores concluyen que las neuronas cuyos axones son largos y proyectan fuera de la corteza, poseen una densidad rica de espinas dendríticas y forman plexos regulares horizontales (células piramidales). En cambio las células con axones cortos intracorticales, se caracterizan por tener pocas espinas dendríticas y ser heteromórfas (células no piramidales).

#### Organización del Area

#### Visual de la Rata Adulta.

En los últimos años ha surgido un interés por el es-

tudio de la corteza visual de la rata, especialmente del área 17. Esta región fué identificada por Sholl (1953), como el área visual primaria cuya arquitectura es similar a la de los mamíferos superiores. Asimismo, sus características individuales la convierten en un modelo ideal para estudios experimentales porque no presenta circunvoluciones y es relativamente delgada. Krieg (1946), la identificó como el área equivalente a la estrida del hombre, presenta una forma de pera y se encuentra incrustada en una gran parte del tercio posterior dorsal -- del lóbulo occipital de la rata. Paralelamente se haya delimitada y rodeada de las áreas 7 y 18 (Fig. 1). Desde el punto de vista citoarquitectónico está formada por células granulares--empaquetas e interrumpidas por la capa V, en donde se observan las grandes células neocorticales (Fig. 2). Con base en los trabajos de Lorente de Nó (1949), Parnavelas y cols., (1977) y de Peters y Regidor (1981), el área 17 en la rata está constituida por 6 capas celulares en el siguiente orden: capa I marginal o plexiforme, capas II y III de células granulares y células piramidales chicas en forma poliédrica, las que presentan una distribución de espinas dendríticas características. En éstas se distinguen tres tipos de espinas; cortas, largas y en forma de hongo, según Peters y Kaiserman-Abramof (1970). La capa IV está formada por células piramidales y no piramidales con o sin espinas. Según el estudio de Feldman y Peters (1978), es la capa en donde se localizan las células multipolares, biramificadas y bipolares en su variedad de espinosas espaciadas.

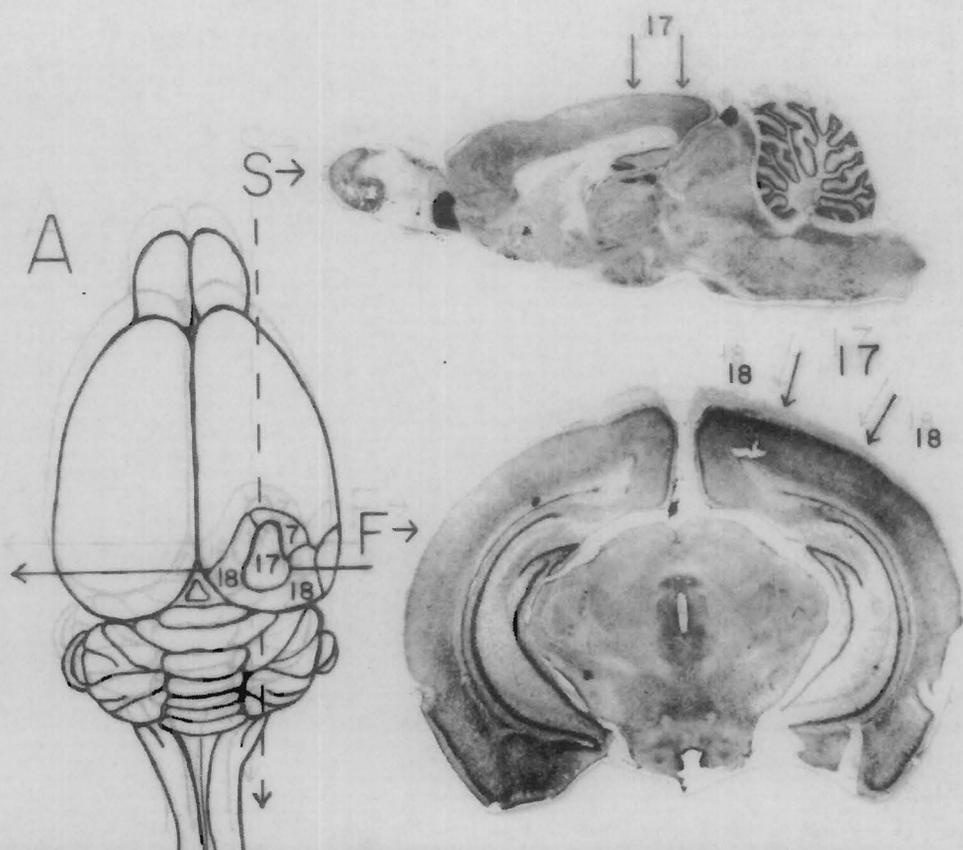


Figura 1. Vista tridimensional del área 17 en el cerebro de la rata. A. Porción dorsal donde se marcan los dos planos; Sagital (S) y frontal (F), además de las áreas 7 y 18 rodeando a la 17. Aumentos; dorsal y sagital, 4X, frontal 8X.

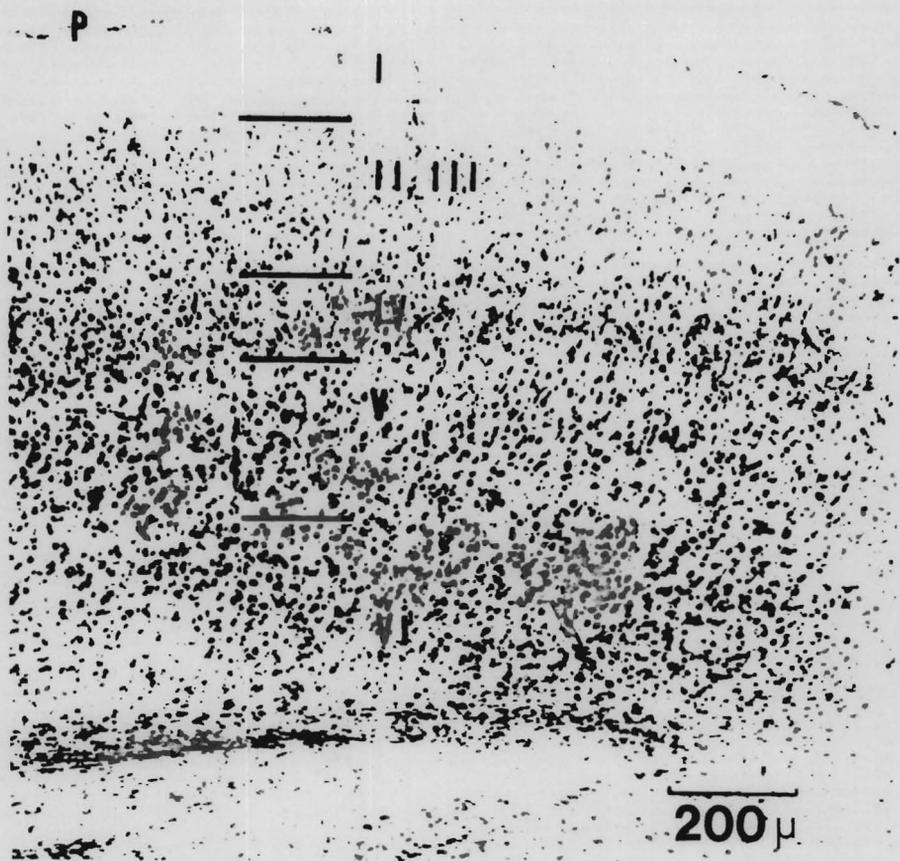


Figura 2.

Fotomicrografía del área 17 de la neocorteza de la rata tomada de material teñido con Nissl, mostrando las diferentes capas, según M. Feldman y A. -- Peters (1978).

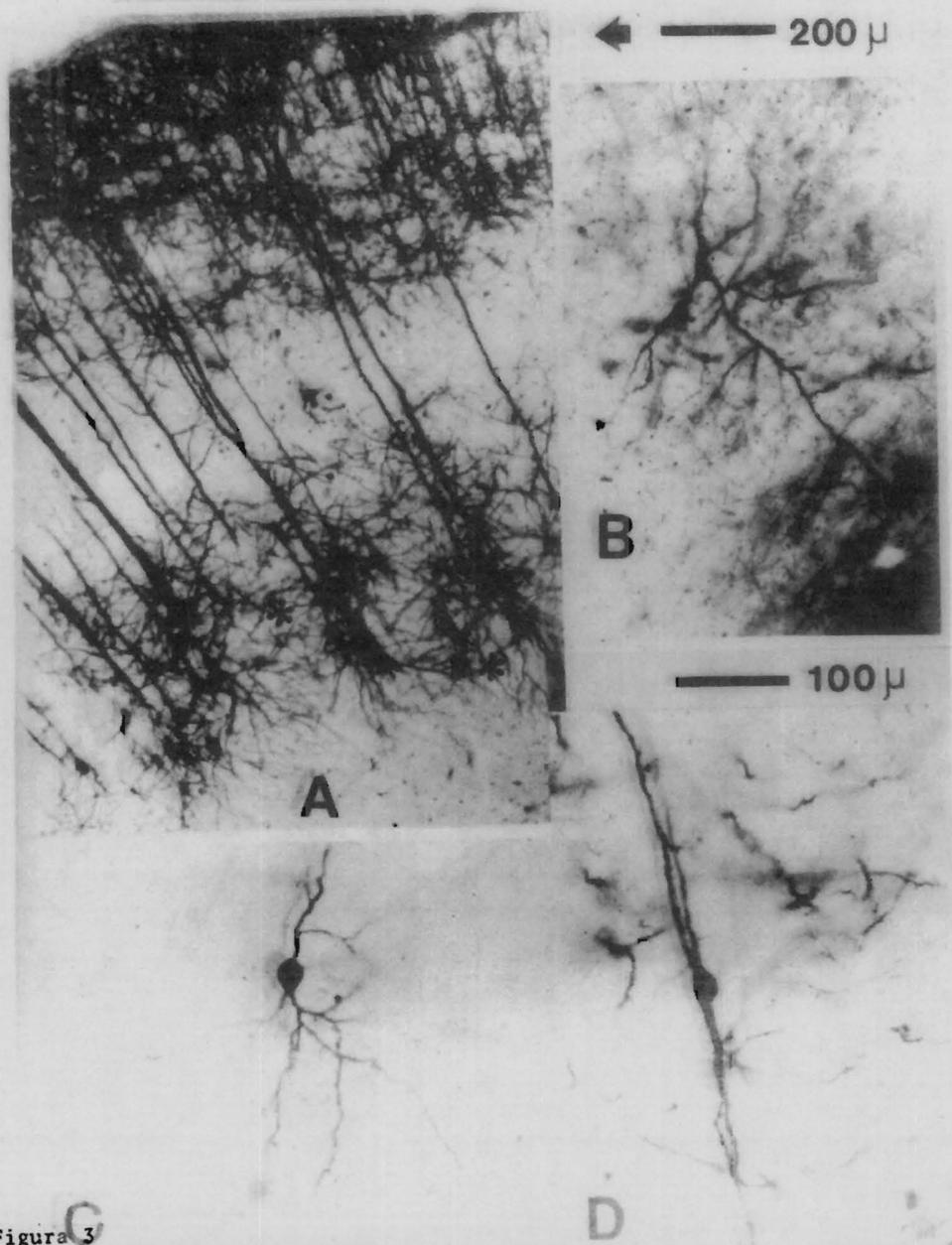


Figura 3

Células de la corteza visual de la rata, teñidas con Golgi rápido. A Células piramidales de las capas III, IV y V, marcadas con asteriscos. B Pirámide invertida de la capa V, C, Célula no piramidal espinosa espaciada, -- tipo biramificada y D, Célula no piramidal espinosa espaciada tipo bipolar.

Esta capa presenta además un plexo axonal denso. La capa V delgada y conspicua, está ocupada por células piramidales grandes de axón grueso cuyas dendritas basales, corren en una dirección preferentemente tangencial que las hace diferentes a las otras capas. Existe además en esta capa, un tipo de pirámide invertida, así como células no piramidales. Finalmente la capa VI, que es relativamente gruesa, posee dos tipos de células, aplanadas grandes y células granulares que tienden a formar un estrato neuronal horizontal (Figs. 3, 4 y 5). El porcentaje que -- ocupa cada capa en esta área 17 corresponde, el 13% a la capa I, el 22% a las capas II y III, el 12% para la capa IV y el -- 53% para las capas V y VI. (Fig. 2).

#### Desarrollo Morfológico

#### y Funcional de la

#### Neocorteza.

La corteza visual es un área de gran plasticidad funcional en el SNC, ya que las ramas y espinas neuronales presentan grandes alteraciones como resultado de la privación --- sensorial luminosa, por el medio ambiente enriquecido, o bajo condiciones ambientales estresantes (Schapiro y Vukovich, 1970). Para comprender esta plasticidad, es necesario reconocer que - el desarrollo neuroanatómico del cerebro ocurre en forma heterocrónica en sus distintas regiones. Más aún, dentro de la - misma región, diferentes componentes del sustrato neural pro--

liferan, migran y se diferencian a distintos intervalos de tiempo (Siassi y Siassi, 1973). Coincidiendo con los cambios morfológicos y bioquímicos, existen también cambios funcionales durante el desarrollo del SNC y por ende de la corteza cerebral. -- Así por ejemplo Eayrs y Goodhead (1959), encontraron que el número de ramas basales de las células piramidales de la capa V, se incrementan rápidamente entre los 18-24 días de edad, concurrente con la apertura de los ojos en la rata. Por otra parte áreas del tallo cerebral muestran que su división celular termina antes de los 15 días posnatales, mientras que en el hipocampo, su división celular termina el día 6 posparto y en la neocorteza -- entre los 16 y 17 días posnatales (Fish y Winick, 1969). El desarrollo de los neurotransmisores específicos varía en las diferentes áreas del cerebro, lo que refleja el carácter heterocrónico del crecimiento neuronal (Winick, 1976).

#### Desarrollo de la Estratificación

##### Neocortical y de las Células

##### Piramidales.

Leuba y Rabinowicz (1979b), analizando la citoarquitectura de diversas áreas corticales incluyendo el área 17 -- encontraron que la secuencia de maduración de las mismas se inicia con las capas I y V, seguidas de las capas VI, III y IV y finalmente la II. Así las capas II, III y IV difieren en su patrón de maduración de las capas I, V y VI. De los estudios

de Sugita (1918), se sabe que la diferenciación y crecimiento de las neuronas corticales ocurre en diferentes tiempos. Así el desarrollo de las células piramidales es más temprano comparado con el de las demás células. Las células piramidales se originan alrededor del día 10 gestacional, migran en el día 14 y proliferan hasta el día 16 postnatal. Las pirámides de la capa V alcanzan su pleno desarrollo en cuanto al tamaño del soma, dendritas y espinas en el día 21 postnatal. Este patrón de maduración, se encuentra modificado por factores como el momento de la aparición de las neuronas, por la llegada de las aferentes talámicas (Marín-Padilla y col., 1969) y por la apertura del canal sensorial visual (Miller, 1981). Estos cambios en la morfología neuronal gruesa, van acompañados de cambios ultraestructurales durante las 3 semanas posnatales, como el aumento del retículo endoplásmico rugoso (Miller y Peters, 1981).

#### Estímulos Sensoriales

#### y Crecimiento de las Neuronas

#### Piramidales Neocorticales.

Los estudios de privación sensorial a diferentes estímulos ambientales de Globus y Scheibel (1967b), mostraron -- una reducción del 30%, en el número de las dendritas de las células piramidales en conejos sometidos a períodos prolongados de obscuridad y aislamiento. En experimentos similares Valverde (1967), encontró una reducción severa en las espinas --

dendríticas de las células piramidales de la corteza visual de la rata, parecidos a los efectos que siguen a la destrucción - del cuerpo geniculado lateral, más que por la enucleación del receptor.

Los resultados podrían interpretarse como consecuencia de la reducción en la llegada de la información aferente a las células piramidales de la corteza visual. Por otra parte los estudios de Parnavelas y Globus (1976); Uylings y col., -- (1978) en ratas sometidas a condiciones ambientales de enriquecimiento de estímulos luminosos continuos, revelan que los animales presentan un incremento en la densidad de las espinas dendríticas de las células piramidales de las capas IV y V de la corteza visual. Paralelamente Greenough y Volkmar (1973) en experimentos similares, mostraron este mismo efecto en las células estrelladas y en las pirámides pequeñas y medianas de estas mismas capas. Estos hallazgos ponen de manifiesto la gran plasticidad de esta porción del SNC, para responder a los estímulos ambientales, aumentando o disminuyendo la densidad de sus espinas dendríticas en la mayoría de sus neuronas.

Caracterización y Desarrollo  
de las Neuronas no Piramidales  
en la Neocorteza.

Las células no piramidales de la corteza visual de la rata muestran características anatómicas y fisiológicas di-

ferentes a las presentadas por las piramidales. Para Jones - (1975), las células no piramidales son estructuras de reciente aparición filogenética y ontogenética; su maduración posnatal se prolonga más que las neuronas de proyección o piramidales. Según Morest (1969), la concentración de estas células es mayor durante los primeros días de edad en la rata, y las espinas dendríticas se desarrollan después del día 14 postparto. Asimismo, forman parte de circuitos neuronales que transmiten información sensorial dentro de la corteza. El conocimiento de la distribución laminar y de la organización espacial de sus árboles dendríticos podrían ayudar a entender, la organización intrínseca de la porción sensorial de la neocorteza incluyendo el área 17 (McMullen y col., 1984). Anatómicamente se les incluye dentro de una población heteromorfa de neuronas cuyos campos dendríticos son estrellados, asimétricos, con dendritas radiales que pueden o no presentar espinas y su axon se ramifica en la misma capa o en la siguiente. Los estudios de microscopía electrónica, de estas células en las capas III y IV de la corteza visual de los roedores, han mostrado que reciben axones terminales talamocorticales y sus axones forman sinápsis simétricas con los cuerpos neuronales y las dendritas de neuronas adyacentes (Parnavelas y col., 1977). Estos mismos autores estudiando la morfología y funcionalidad de las células no piramidales en el área visual de la rata, mediante registros unitarios y siguiendo la técnica de la peroxidasa de rábano, reconocieron que el 27%

de la población neuronal total en las capas corticales estudiadas, corresponden a las células no piramidales. Asimismo, que estas mismas células se presentan con mayor frecuencia en la capa IV (Parnavelas y col., 1983). Por otra parte también se sabe que en la corteza visual de la rata, las células no piramidales sin espinas, contienen ácido gamma-aminobutírico (GABA) (Somogyi y cols., 1983). Sus axones terminales contiene la descarboxilasa del ácido glutámico, lo cual permite identificarlas como neuronas con función inhibitoria.

Se ha descrito también (Peters, 1971) que las células no piramidales poseen dendritas que en forma peculiar proyectan a través de la corteza sin tener el carácter de las dendritas apicales. El resto de sus dendritas usualmente son delgadas y ultraestructuralmente contienen un mayor ordenamiento de microtúbulos. Estas células poseen pocas espinas en comparación con las células piramidales, se presentan con mayor frecuencia en la capa IV y tienen pequeños "clusters", o conjuntos de dendritas horizontales. Por observación a la microscopía electrónica, el soma presenta cisternas de superficie rugosa y en un arreglo paralelo a la envoltura nuclear. La superficie es irregular en el soma de las células estrelladas grandes no piramidales, quienes muestran además una envoltura nuclear rugosa, sitio en el cual se llevaban a cabo las uniones sinápticas simétricas con los axones aferentes.

Por su parte Feldman y Peters (1978) clasificaron a las células no piramidales en la corteza visual de la rata, con base en la disposición de sus dendritas en multipolares, birami-

ficadas y bipolares; y en cuanto a la presencia de espinas en: espinosas, espinosas espaciadas y sin espinas.

Origen de las Celulas No  
Piramidales en la Neocorteza  
de la Rata.

Las células no piramidales muestran patrones de desarrollo y neurogénesis diferentes a los que presentan las pirámides. Así se sabe que en la primitiva capa plexiforme de la placa cortical, su crecimiento puede continuarse hasta la vida adulta. Por los estudios de West y Kemper (1976) y de Parnavelas y col., (1977, 1983), se sabe que es raro encontrarlas al nacimiento y durante la primera semana posnatal en la corteza visual, ya que están esparcidas y distribuidas en las capas profundas corticales. Batuev y Damianenko (1983), encontraron una distribución similar en el gato. Parnavelas y Uylings (1980), mostraron que su cuerpo es pequeño, sus dendritas indiferenciadas en la primera semana posnatal en la capa IV, y no es sino hasta la segunda semana cuando adquieren las proporciones del adulto. El crecimiento es mayor entre la primera y la segunda semana posnatales. Posteriormente en la mitad de la tercera semana, alcanzan el mayor número de sus segmentos dendríticos. La longitud de sus segmentos intermedios, la totalidad de su extensión dendrítica, así como la máxima densidad de sus espinas se alcanza al final de la tercera semana posnatal. Recien

temente, Felten y col., (1982), sugirieron que el desarrollo posnatal de las células no piramidales corticales en las capas IV y V, obedece a un efecto neurotrófico de las terminales noradrenérgicas que provienen del tallo cerebral.

Desnutrición y Desarrollo  
de la Neocorteza en la  
Rata y el Ratón.

El desarrollo normal del cerebro depende principalmente de dos factores: un factor intrínseco representado por el programa genético y otro formado por la acción de varios factores ambientales (factor extrínseco). Entre los factores extrínsecos más importantes, se encuentra la privación nutricional perinatal. A este estímulo y a otros el organismo responde en forma diferente. Así por ejemplo se sabe que la desnutrición reduce hasta en un 50% el peso corporal, mientras que el peso cerebral sólo decae hasta el 15%. Esta desproporción obedece a la movilización de proteínas periféricas que evita efectos severos sobre el tejido cerebral. Esta concepción ha derivado de estudios previos, que muestran la presencia de triptofano libre en el plasma como factor determinante para la síntesis de proteína (Morgane y col., 1978 y Resnick y col., 1982). En efecto se sabe que el aminoácido se encuentra aumentado en el plasma de los animales desnutridos, concurriendo con una reducción en la producción láctea en las hembras -

lactantes desnutridas (Miller, 1970).

La deficiencia nutricional durante determinados estadios del desarrollo neuronal, puede dañar seria y permanentemente el proceso de maduración cerebral. Paralelamente, esto puede traer como consecuencia una disminución en los procesos de división, migración y maduración de las células gliales retrasando el proceso de la mielinogénesis. Por otra parte, retrasada esta maduración se deteriora el crecimiento de los sistemas aferentes específicos que llegan a la corteza (influencia inductiva) interfiriendo con la diferenciación y maduración de las estructuras postsinápticas. Si la desnutrición ocurre en la fase de rápido crecimiento, la consecuencia es un retardo en el desarrollo y maduración de la neocorteza (West y Kemper, 1976; Morgane y col., 1978, y Bedi y col., 1980a). Dichos estudios mostraron que el volumen total de la corteza cerebral se reduce durante la desnutrición, aunque el efecto no es del todo completo, debido a que no hay una clara reducción del número de células. Sugita (1918), estudiando los efectos de la desnutrición posnatal comparó el volumen y la extensión de la superficie cortical en secciones frontales y sagitales de la rata, mostrando que el número total de neuronas de la placa cortical no se afectaba por la desnutrición. Los estudios recientes de Leuba y Rabinowicz (1979b), en ratones desnutridos pre y posnatalmente, mostraron al igual que Sugita, la ausencia de una reducción del número de células. Sin embargo, cuando estudiaron diversas edades (10, 30, 60 y 180 días) encontra

ron un incremento del empaquetamiento celular y un aumento del número total de células en ratones de 10 días, manteniéndose - esta diferencia hasta los 180 días. El aumento en la densidad neuronal puede atribuirse a un posible retraso en el programa de muerte celular neonatal, o al decremento del grosor de la - corteza cerebral. Este hecho es ampliamente aceptado y se ha comprobado por diversos estudios (Callison y Spencer, 1968; -- Cragg, 1972; Siassi y Siassi, 1973; Thomas y col., 1980; Warren y Bedi, 1982) entre otros. Un decremento de la amplitud neocor tical en los animales desnutridos posnatalmente también se ha - referido en los trabajos de Bass y col., (1970); Dobbing y -- col., (1971); Clark y col., (1973); West y Kemper (1976) y An gulo-Colmenares (1979).

Interacción entre la  
Desnutrición y el  
Sistema Endócrino.

El crecimiento normal del cerebro también se encuen tra regulado por la presencia de hormonas tiroideas y del cre cimiento. Asimismo ha sido motivo de discusión, si los efec tos de la desnutrición podrían deberse además a la acción de una deficiencia hormonal. El concepto de un efecto indirecto a través del sistema endócrino, ha derivado de estudios en -- los que se ha inyectado hormona de crecimiento en animales desn utridos, provocando aumento del crecimiento. En ratas desnu

tridas neonatalmente se sabe que las hormonas tiroideas se encuentran reducidas en la circulación y asimismo existe una reducción en la respuesta tisular a las mismas. En la rata hipotiroidea, se reduce el rango de la división celular, extendiéndose el tiempo de la división celular de 21 hasta 35 días posnatales; asimismo, el número de células es mayor que en los animales normales. El hipertiroidismo, provoca el efecto contrario. Así los efectos de la desnutrición no se manifiestan por sí solos a un nivel celular, sino también por la reducción o la disponibilidad de las hormonas tiroideas (Winick, 1976).

#### Desnutrición y Desarrollo de las Células Piramidales.

En estudios de las células piramidales de la corteza llevados a cabo en material de Golgi en ratas posnatalmente desnutridas, se ha comprobado que virtualmente todos los parámetros celulares medibles son afectados por la desnutrición. Los más sobresalientes son la amplitud del campo dendrítico, el grosor de sus ramas y la densidad de las espinas dendríticas (Sallas y col., 1974). Por otra parte estudiando los efectos de la desnutrición pre y posnatal, West y Kemper (1976), encontraron decrementos de los campos dendríticos, de la densidad de las espinas dendríticas y de la extensión lineal de la dendrita apical en neuronas piramidales de la capa IIIb visual de la rata de -

30 días de edad. Angulo-Colmenares y col., (1979) en animales desnutridos también encontraron reducción de la dendrita apical y del grosor de la corteza a los 20 días posparto. Leuba y Rabinowicz (1979a y b) en estudios similares encontraron una reducción de las dendritas basales de las capas III y IV en -- los días 10, 15 y 21, pero no en los días 30 y 180. Por otra parte, estos mismos autores estudiando a ratones desnutridos -- solamente en el período de la lactancia, describieron que es-- tas deficiencias persisten hasta los 180 días. Finalmente, No back y Eisenman (1981), encontraron decrementos de la densidad de las espinas dendríticas en las células piramidales de la ca pa III a los 21 días posnatales. Shönheit (1982), estudiando detalladamente las capas III y V de la corteza del cíngulo en ratas desnutridas posnatalmente, encontró trastornos signifi-- cativos en la longitud de las dendritas basales y en la densi-- dad de las espinas dendríticas a los 30 días y a los 60 días -- de edad.

Desnutrición y  
Desarrollo Sináptico.

Estudios de microscopía electrónica han revelado que la desnutrición pre y posnatal provoca trastornos severos en las uniones sinápticas. Así, las observaciones de Cragg (1972) muestran que ocurre una reducción en el número de sinapsis en los animales desnutridos posnatalmente. Gambetti y col., ---

(1974), en animales desnutridos desde la última semana de la gestación hasta los 24 días posnatales, encontraron una reducción de las terminales sinápticas. Dyson y Jones (1976), también describieron decrementos significativos en la densidad sináptica de la capa I del área visual a los 20 días. Thomas y col., (1980), usando desnutrición posnatal, encontraron también una reducción en la densidad de las sinápsis en la corteza frontal de ratas a los 30 días de edad. Basados en los hallazgos de una reducción de axones terminales y del aumento en el empaquetamiento neuronal, Cragg (1972), estimó que la reducción total de contactos sinápticos por neurona en los animales desnutridos era de un 38% a 41%, en tanto que Thomas y col., (1980), ubican esta reducción en un 37%.

Efectos de la Desnutrición  
Sobre las Células No Piramidales.

En el pasado se le ha dedicado poca atención a las células no piramidales de la corteza, con respecto al curso temporal de sus patrones de crecimiento y sinápsis; así como también a los posibles efectos que la desnutrición posnatal podría causar sobre estas células. West y Kemper (1976), observaron cambios cuantitativos de la densidad de las espinas dendríticas de las células no piramidales a los 30 días. Por su parte, Shönheit (1980), describió efectos severos provocados por

la desnutrición sobre estas células a nivel de las capas profundas de la corteza del cíngulo. En el estudio se describen incrementos significativos en la longitud, densidad de ramas y de espinas dendríticas por efecto de la edad entre los 30 y los 60 días de edad. En cambio, los animales desnutridos no muestran esta tendencia al crecimiento dendrítico, en tanto que la densidad de las espinas dendríticas se encuentra incrementada en un 50% con respecto a los controles. Una posible interpretación a estos resultados se da en términos de las relaciones entre el tiempo del desarrollo postnatal y el grado de los trastornos mostrados en cada uno de los tres tipos celulares que configuran a la corteza. Así la capa V de células piramidales madura antes que la capa III piramidal y consecuentemente, presenta menos alteraciones comparada con los animales control y las células no piramidales cuya maduración posnatal es lenta. Por otra parte el curso temporal de su crecimiento revela que los mayores trastornos son provocados por la desnutrición posnatal. Estos hallazgos pudieran también interpretarse como el resultado de una adaptación diferencial de las células no piramidales, con relación a las células piramidales. Asimismo, podrían correlacionarse con los resultados encontrados en las células no piramidales de los núcleos aminérgicos -- Rafe Dorsal (NRD) y Locus Coeruleus (NLC). En efecto en estas estructuras, hemos observado un incremento en la densidad de las espinas dendríticas entre los 30 y los 90 días, que va seguida de un decremento entre los 90 y 220 días en el NRD (Díaz-

Cintra y col., 1981a), en tanto que en el NLC, sucede el efecto contrario (Cintra y col., 1982). En cambio en los animales desnutridos pre y posnatalmente no presentan este doble efecto con la edad en ambos núcleos (Díaz-Cintra y cols., 1981b, 1984).

### Desnutrición y Producción de Aminas Biogénicas.

Animales desnutridos pre y posnatalmente con dietas isocalóricas e hipoproteínicas, Morgane y cols., (1978), han mostrado consistentemente un incremento en el contenido de las aminas biogénicas durante prácticamente toda la vida del animal. Por esta razón los estudios de los dos núcleos NRD y NLC, como representantes principales en la producción de aminas, se ofreció como un modelo experimental interesante. Sin embargo, la desnutrición no provocó en ellos decrementos en sus ramas ni en sus espinas, como los efectos encontrados en el modelo de las células piramidales grandes de la corteza. Por el contrario hubo incrementos en estos parámetros, en los tipos celulares que supuestamente se encuentran involucrados en la producción de aminas. Por otra parte se sabe por los estudios de Morrison y Magistretti (1983), que la corteza cerebral de la rata posee 3 proyecciones monoaminérgicas a saber: a) noradrenérgicas provenientes del NLC, 2) serotoninérgicas del NRD, y 3) dopaminérgicas de la sustancia nigra y además colinérgicas, del complejo nuclear del telencéfalo basal (Núcleo septal medial y --

la banda diagonal) y lateralmente por el núcleo basal de la -  
substancia inominada. La primera ha sido la mejor caracteri-  
zada en su trayectoria, en la rata ocupa gran parte de las re  
giones dorsal y lateral de la corteza y aparecen estas fibras  
noradrenérgicas como un campo denso terminal en las capas V y  
VI, mientras que en las capas II y III aparecen fibras noradre  
nérgicas radiales y en las capas I y IV, son fibras tangencia  
les. Las serotonérgicas, provenientes del NRD, ocupan la ca-  
pa IV de una manera densa (esta recibe las proyecciones talá-  
micas específicas) y proyectan también a las capas V y VI de  
una manera difusa. Zecevic y Rabic (1982), encontraron que las  
células no piramidales poseen neuropéptidos, esto hace que los  
tipos celulares no piramidales pudieran ser específicos en cuanto  
a sus neurotransmisores. Con base en estos hallazgos, se re-  
querirá en un futuro cercano de estudios neuroquímicos sobre -  
estas células en toda la corteza cerebral, para una mejor com-  
prensión tanto en condiciones fisiológicas como en su adapta--  
ción a los efectos provocados por la desnutrición.

En resumen, la desnutrición ocurrida durante el -  
desarrollo cerebral, tiene efectos más marcados sobre el grosor  
de la corteza cerebral, la densidad neuronal, el desarrollo si-  
náptico y la amplitud dendrítica. En cambio provoca menores --  
efectos sobre el tamaño de la corteza cerebral, el número to--  
tal de neuronas y la densidad de las sinápsis en el neuropilo  
o en la densidad de las células gliales. Las células no pira-  
midales parecen mostrar patrones diferentes de desarrollo y -

por lo tanto parecen reaccionar de manera diferente a la desnutrición, dependiendo de si esta se presenta pre o posnatalmente, reaccionando de manera similar a las neuronas no piramidales del tallo cerebral.

El objetivo principal de la presente tesis es mediante el empleo de técnicas morfométricas, reconocer la localización, la caracterización y la adaptación que sufren las células no piramidales de la corteza visual de la rata a la acción nociva de la desnutrición. En el estudio se cuantifican las ramas dendríticas, el número de espinas en segmentos de 50 micras, así como también se miden la extensión lineal de las ramas y su grosor, en animales alimentados con cantidad normal de proteína, normales (25%) y desnutridos alimentados con dietas bajas en proteína (8% y 6% de caseína).

## MATERIALES Y METODOS.

El material biológico empleado en la presente tesis, se obtuvo de 30 ratas vírgenes y de 15 machos adultos entre 60 y 70 días de edad, de la variedad Sprague Dawley (Laboratorios Charles River, USA), habiendo tres grupos de individuos cada uno de ellos alimentados con 25% de caseína (normal) y 8% y 6% de caseína (desnutridos), estas dos últimas dietas, son hipoproteínicas e isocalóricas conteniendo 4.3 Kcal/gr y complementadas con l-metionina (Cuadro 1). En el caso de las hembras fueron alimentadas durante 5 semanas y en los machos solo durante una semana al término de las cuales se cruzaron. El hecho de administrar la dieta antes del apareamiento, establece a priori un grado de equilibrio metabólico antes del embarazo. El inicio del embarazo, se determinó mediante frotis vaginales y se precisó la fecha de éste y luego, se aislaron 4 hembras preñadas de cada uno de los tres tratamientos experimentales, ya separadas, se les mantuvo con su respectiva dieta ad libitum, durante toda la gestación, al término de la cual, las crías de cada una de las cuatro camadas, sometidas al mismo tratamiento, se mezclaron al azar y se estandarizaron a 8 individuos por madre (4 hembras y 4 machos). Los 32 individuos de las 4 camadas se mantuvieron en sus respectivas dietas durante toda la lactancia y aún después del destete, en un total de 96 individuos por las tres dietas. Posteriormente, las crías fueron destetadas en el día 21 posparto y fueron luego colocadas en cajas separadas (4 animales por caja, del mismo

sexo), así se les mantuvo en sus respectivas dietas hasta el término de las edades empleadas en el estudio (30, 90 y 220 - días). Fueron así mismo alimentadas pre y posnatalmente con 25% de caseína en el caso de los animales control y con baja proteína, 8% y 6% a los animales desnutridos.

Para la selección del área 17 visual, se emplearon exclusivamente machos en un total de 48 animales, provenientes 16 de cada dieta en las tres edades. De estos se prepararon 10 animales para la técnica de Nissl y 10 para la de Klüver-Barrera y el resto de ellos se procesaron con la técnica de Golgi rápido, previamente descrita y modificada por Díaz-Cintra y cols., (1981a).

Los 48 machos al término de sus edades fueron pesados y anestesiados con pentobarbital sódico (55mg/Kg de peso), 30 min. antes de la perfusión. Esta se realizó por vía intracardíaca, primero con solución salina y luego con formalina amortiguada al 10% con sales de fosfato de sodio dibásico y monobásico. La solución fijadora se dejó correr en el animal de 3-8 min. dependiendo del peso corporal del animal, hasta que los ojos, extremidades, lengua y nariz presentaron color blanquizco.

Para la técnica de Nissl, al día siguiente, se procesaron los 10 cerebros, separándolos del cráneo los que fueron pesados y se procedió a la localización en ellos del área 17, según el atlas para rata de Paxinos y Watson (1982). Asimismo se hizo un corte de la porción occipital de 6mm. al cual se le incluyó en una mezcla de albúmina-gelatina para hacer un -

bloque. Posteriormente, este se fijó con vapores de formaldehído (3 días en refrigeración) y luego se transfirió a una solución de formaldehído sucrosa, durante 2-3 días. Enseguida se procedió a la obtención de cortes seriados de 60 micras en el microtomo de congelación, en el plano frontal en 5 cerebros y el resto en el plano sagital. Los cortes fueron montados en portaobjetos, con una solución de gelatina al 2% en alcohol al 80%. Una vez secas las preparaciones, se procedió a la tinción, primero se colocaron en una solución de alcohol acidulado y luego se tiñieron en una solución de violeta de crecilo al 0.1% durante 15 min. Enseguida se les deshidrató en alcohol 70% y en alcohol 95%, en donde los cortes viraron a un color azul claro, luego se aclararon en terpineol y en xilol, para finalmente ser montadas en cubreobjetos con resina.

Para la técnica de Klüver-Barrera se emplearon 10 cerebros 5 en el plano frontal y 5 en el plano sagital. Se procedió primero a que las fibras se tiñeran con una solución de luxol-azul rápido durante 12 horas a 40°C, luego se transfirieron a una solución de violeta de crecilo al 0.1% con el objeto de teñir las células. Con esta técnica se diferencian los núcleos celulares en un color azul y las fibras en un color verde. En este material se pudo distinguir más claramente el área 17, la cual fué identificada empleando el atlas de Paxinos y Watson 1982), y se le ubicó entre las siguientes coordenadas: bregma anterior 5.5. mm, posterior a - 8.5 mm, lateral a 1.7 hasta -3.9 mm, intraural a 3.2 hasta 0.2 mm. La ubica--

ción se ajustó en las dimensiones de los animales de 30 - días. Según Peters (1981), el área 17 en la rata se encuentra rodeada por las áreas 7, 18 y 18a. El área se haya formada por seis capas, de las cuales las capas V y VI ocupan más del 50% del grosor de la corteza visual y el porcentaje restante corresponde a las otras cuatro capas. La capa IV ocupa el 33%, en las tinciones de Nissl y Klüver-Barrera observándose con una apariencia granulosa densa, cuyos límites laterales en un corte frontal se diferencian claramente del área 18 y 18a, ya que éstas no presentan la misma proporción en la distribución de sus capas. Una vez realizada el área 17 en los cortes frontales y sagitales con las 2 técnicas anteriores se procedió a la identificación y preparación del material consistente en los 28 cerebros restantes para la técnica de Golgi-rápido, se hicieron bloques cúbicos de tejido en el plano frontal y el sagital de 4 mm de lado pasando por la glándula pineal, en el plano rostral y a 6 mm laterales a una profundidad de 4 mm, en donde se podía apreciar claramente la sustancia blanca. Una vez obtenido el bloque cúbico de 4 mm. se procedió a su fijación en una solución de dicromato de potasio al 4.5% y de ácido ósmico al 1%, en una proporción de 4:1. El tejido se colocó en la oscuridad durante 7 a 11 días dependiendo de la edad del animal y de la condición experimental. Los bloques completos se contrastaron en una solución de nitrato de plata al 0.75% durante 24 horas y luego se deshidrataron en alcoholes graduales desde -

50%, 70%, 80% y 96%, luego en una mezcla de alcohol etílico y éter 1:1 de media hora a 1 hora en cada cambio. Enseguida se colocaron en nitrocelulosa de baja viscosidad en porcentajes graduales (1%, 10%, 15% y 30%). Posteriormente, se incluyeron, en bloques con nitrocelulosa al 30% endurecida con vapores de cloroformo en un desecador al vacío. Se procedió después al montaje de los bloques en soportes para su corte al microtomo de deslizamiento, en donde se obtuvieron secciones de 120 a 160 micras de grosor. Cada corte se deshidrató en alcoholes de concentración ascendente y se aclaró en terpinol y xileno y finalmente fueron montados en Resina sintética, siguiendo una estricta seriación. Pasado el tiempo del secado de las preparaciones, se procedió a la localización de la capa IV y en ella se identificaron las células no piramidales (Fig. 3). Se clasificaron los tres tipos celulares como células multipolares, biramificadas y bipolares en su variedad de espinosas espaciadas, de acuerdo a la clasificación de Feldman y Peters (1978), Fig. 4. Se seleccionaron 5 células de 5 animales en cada una de las variedades y en cada condición experimental para cada edad, reuniendo un total de 135 células. Las células multipolares espinosas se seleccionaron de una manera idéntica en la misma capa IV, pero midiendo 10 neuronas provenientes de 10 animales por edad y condición experimental, reuniendo un total de 90 células para el estudio. Los cuatro tipos celulares se cuantificaron utilizando reglillas oculares, previamente ca-

libradas bajo el microscopio de campo claro marca Zeiss a 400X inmersión, con óptica plana apocromática. Para mejorar la resolución de este tipo de preparación histológica gruesa, se utilizó un condensador de campo oscuro al que se le colocó aceite de inmersión.

Identificadas las células no piramidales multipolares, biramificadas y bipolares en su variedad de espinosas espaciadas y además a las multipolares espinosas de la capa IV cortical en las tres condiciones experimentales, las preparaciones seleccionadas con ejemplos de cada tipo celular, se mezclaron y numeraron al azar; así el observador desconocía la condición experimental al hacer las mediciones. De esta manera se obtuvo de estas células las siguientes mediciones: 1) eje mayor y menor del soma en micras, 2) número de ramas primarias (P), secundarias (S) y terminales (T), 3) la extensión lineal de cada dendrita, P, S y T, en las multipolares espinosas espaciadas y dos de ellas en las biramificadas y en las bipolares espinosas espaciadas. La extensión lineal se midió según el método de triangulación descrito por Bok (1956), empleando la siguiente fórmula  $\sqrt{A^2 + B^4}$ , en donde A corresponde a las micras medidas con la reglilla ocular, y B a las micras corridas en el tornillo micrométrico o sea la profundidad en que se orientó la dendrita: 4) el diámetro dendrítico de las ramas, P, S y T a la mitad de la extensión lineal, t 5) la densidad de las espinas dendríticas en un segmento de 50 micras en cada uno de los tres tipos celulares --

(fig. 6). Para los detalles anatómicos se dibujaron en cámara lúcida varios ejemplos de cada célula.

En el caso de las células multipolares espinosas, se utilizó otro criterio para la obtención de mediciones. Bajo el microscopio y con la ayuda de la cámara lúcida, se enfocó la célula seleccionada completa y bien impregnada, y se le hizo coincidir con un esquema transparente en donde se encontraban dibujados y calibrados cuatro círculos concéntricos, - cada círculo de 50 micras (según el método de Sholl). A la célula se le tomaron las siguientes mediciones: 1) eje mayor y menor del soma, 2) número de ramas P, salientes del soma, 3) en cada círculo se contó el número de dendritas que intersectaban el límite del círculo, y 4) el número de espinas dendríticas - en un segmento de 50 micras, en un total de 200 micras por célula (Fig.12). Al igual que en el caso anterior las mediciones se efectuaron sin conocimiento previo del tratamiento, con el fin de que no hubiera influencia en el observador.

Hechas las mediciones en las células no piramidales, - se procedió a identificar en cada preparación si correspondía a la condición control o a la experimental. Enseguida los datos se procesaron estadísticamente en una computadora PDP-11. En el análisis de las diferencias entre los grupos se utilizó la prueba de "t" de Student para los parámetros 1,4 y 5 de -- las células multipolares, biramificadas, bipolares; y para el parámetro 1, de las multipolares espinosas. La prueba de "U"

de Mann Whitney para el resto de los parámetros medidos, en los cuatro tipos celulares estudiados. Paralelamente se -- compararon las mediciones en cada una de las edades estudiadas (30 vs 90 y 90 vs 220 d<sub>fas</sub>), con las mismas pruebas estadísticas de "t" y de "U" para obtener el porcentaje de incremento o decremento causado por el factor edad (Figs. 9. - 10, 11, 17 y 19).

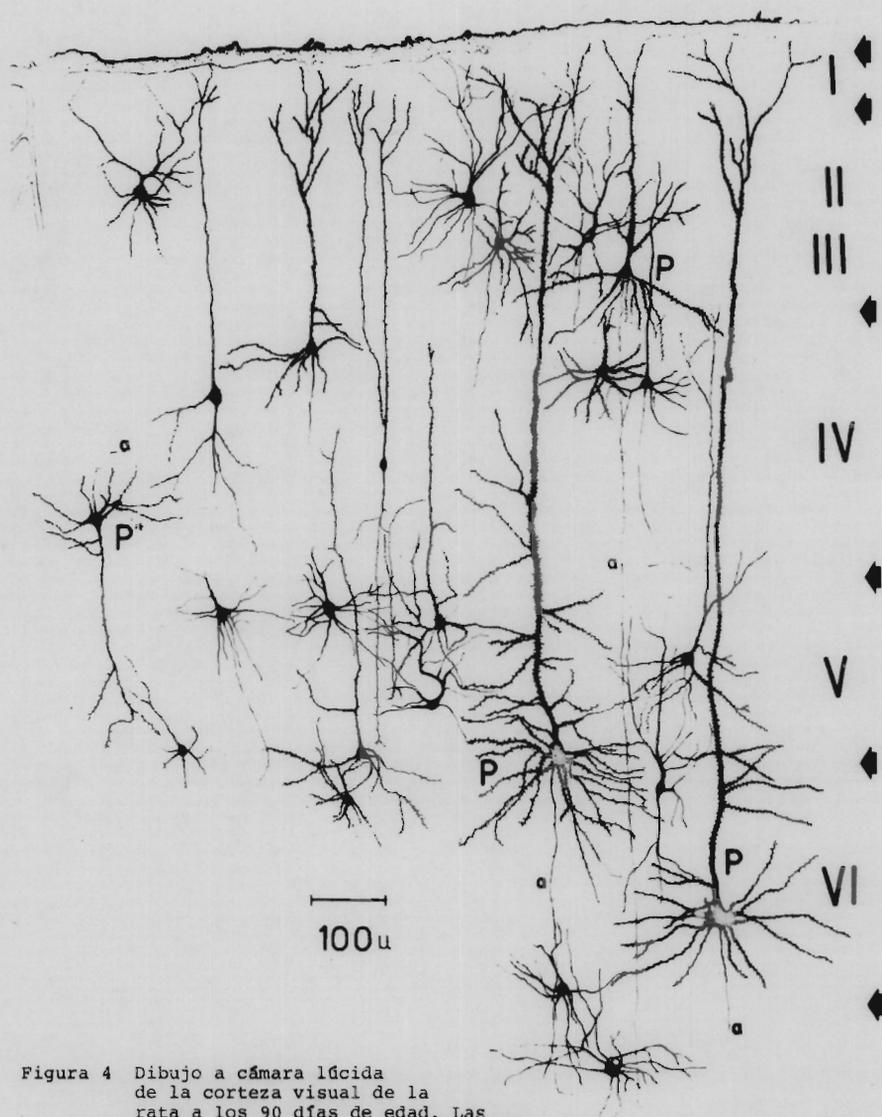


Figura 4 Dibujo a cámara lúcida de la corteza visual de la rata a los 90 días de edad. Las flechas indican la extensión de las seis capas. P, células piramidales de las capas III, V y VI, P\* pirámide invertida, el resto representa la población de células no piramidales localizadas en todas las capas corticales, a= axones.

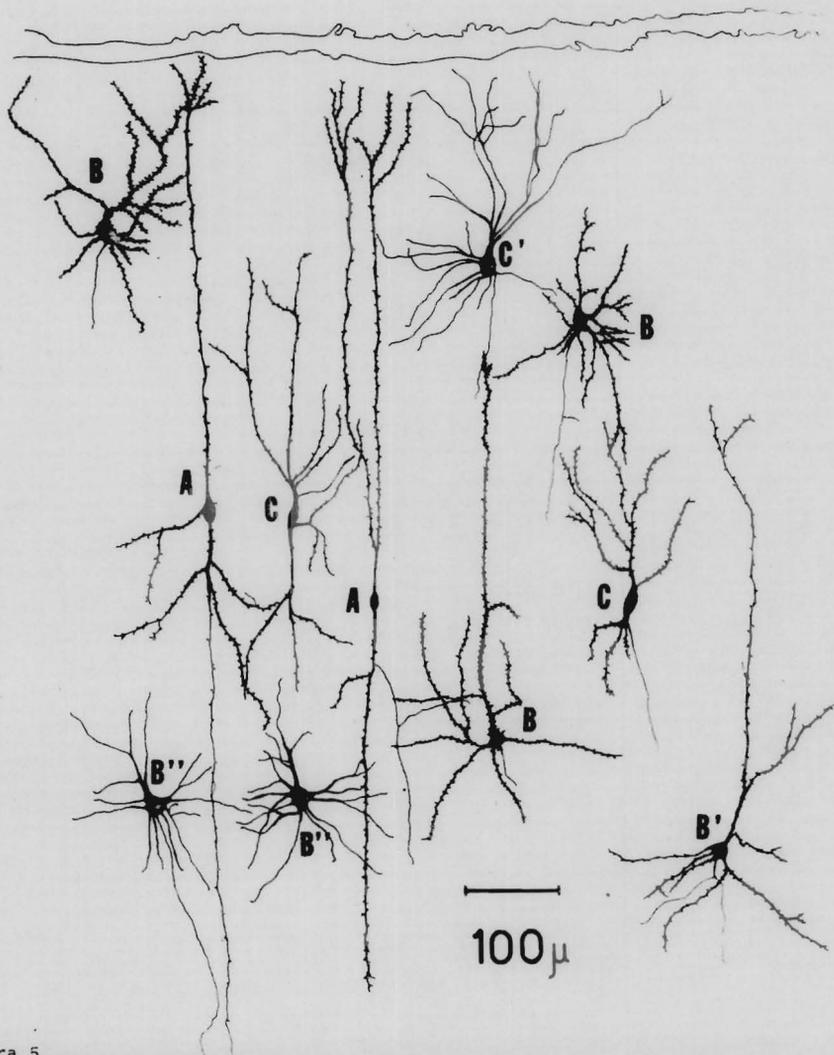


Figura 5.  
 Dibujo a cámara lúcida compuesto de los tres tipos celulares no piramidales de la corteza visual de la rata; A, Bipolares espinosas espaciadas, B, Multipolares espinosas, B', Multipolares espinosas espaciadas; B'' Multipolares sin espinas; C, Biramificadas espinosas espaciadas y C', Biramificadas sin espinas.

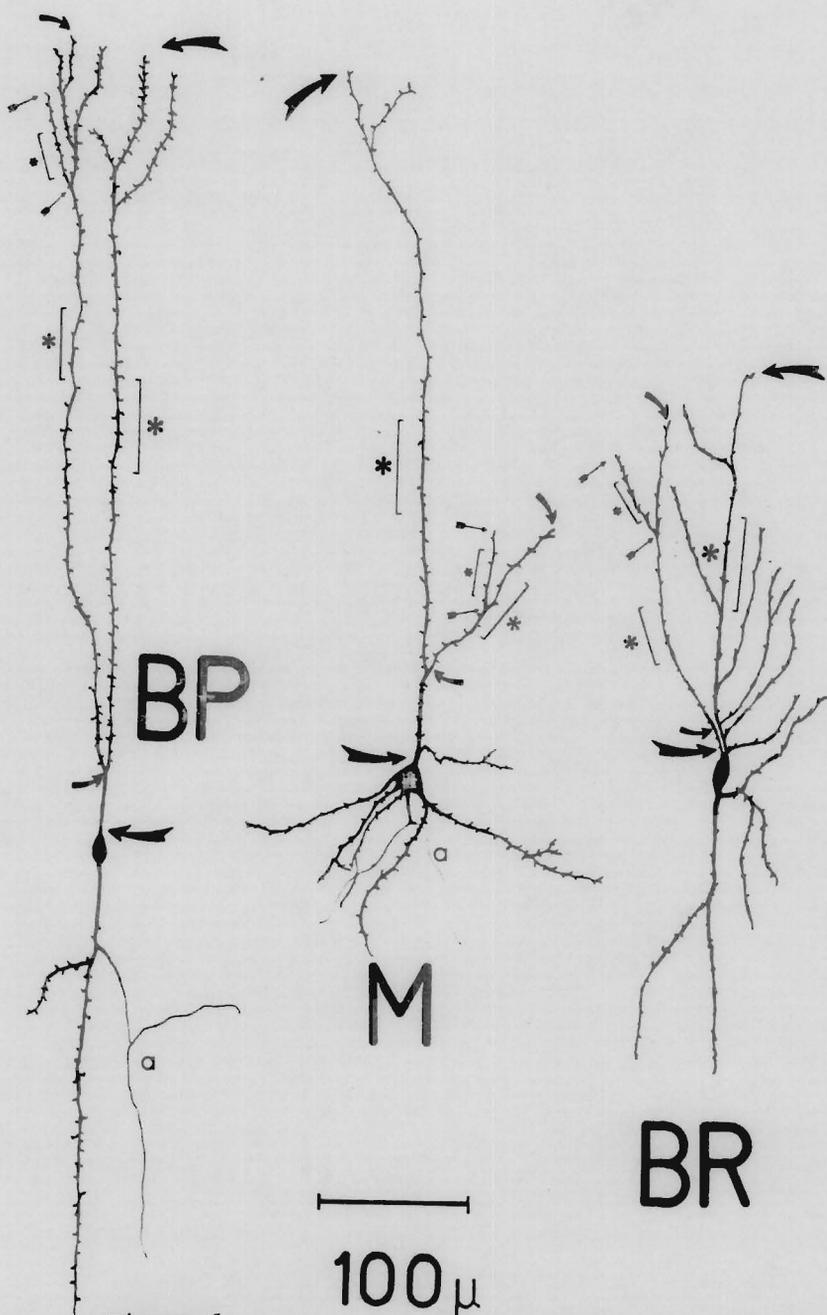


Figura 6.  
 Dibujo a cámara lúcida de los tres tipos celulares no piramidales en su variedad espinosas espaciadas, en donde se efectuaron las mediciones, BP, Bipolares; M, Multipolares y BR, Biramificadas. Las flechas indican las mediciones de la extensión lineal en cada rama; grandes, primarias; medianas, secundarias y chicas, terminales. El asterisco indica, el sitio en donde se midió el diámetro de cada rama y el paréntesis, el espacio de 50 micras en donde se contó el número de espinas dendríticas en cada una de las ramas. a = axones.

## RESULTADOS.

Los hallazgos del presente estudio indican que en los tres tipos de células no piramidales, las mediciones mostraron incrementos o decrementos en los animales desnutridos con 8% y 6% de caseína, en comparación con sus testigos (Tablas I, II y III). En ellas se observan las medias y las desviaciones estándar del tamaño del soma, el número de ramas primarias (P), secundarias (S) y terminales (T), así como en la extensión lineal y el diámetro de las mismas. La Tabla I, muestra los resultados de las células multipolares espinosas espaciadas (M), en donde el tamaño del soma no fué afectado por la desnutrición. El número de ramas P, S y T de los animales desnutridos con 8%, mostraron incrementos significativos en las tres edades estudiadas; en tanto que los animales desnutridos con 6%, presentaron incrementos de las ramas T a los 90 días y luego decrementos a los 220 días. La extensión lineal vista en los desnutridos con 8% mostró 5 incrementos significativos de los cuales correspondieron 3 a los 30 días en las tres ramas, y 2 a los 220 días en las ramas P y S. En los desnutridos con 6%, sus decrementos se mostraron en las ramas P y T a los 30 días y en las ramas P y S a los 220 días. El diámetro dendrítico en los desnutridos con 8%, se incrementó a los 30 días en las tres ramas y luego se redujo en las ramas T a los 90 días, y en las tres ramas a los 220 días. Los desnutridos con 6% mostraron decrementos en sus ramas P a los 30 días, de

sus ramas P y S a los 220 días y un incremento de sus ramas P a los 90 días. La Tabla II, muestra los resultados de las células biramificadas espinosas espaciadas, las que no presentaron cambios en el tamaño del soma por la desnutrición. El número de ramas aumentó en los animales desnutridos con 8% de caseína en sus tres ramas y en las tres edades estudiadas. Los desnutridos con 6% mostraron una reducción en las ramas T a los 90 días y de las ramas P a los 220 días de edad. La extensión dendrítica lineal, en las ramas P, S y T se incrementó en los desnutridos con 8% a los 30 y a los 90 días, persistiendo este incremento en las dendritas T a los 220 días. Los desnutridos con 6% mostraron un decremento en las ramas T a los 30 días. El diámetro dendrítico de las ramas T se vio disminuido en los animales desnutridos con 8% de caseína a los 30 y a los 220 días. Los desnutridos con 6% tuvieron disminución de sus ramas S a los 30 días; en las ramas S y T a los 90 días y sólo de las ramas T a los 220 días. La Tabla III muestra los resultados de las células bipolares espinosas espaciadas, en donde no hubo cambio en el tamaño del soma en los animales desnutridos con 8% y 6% de caseína. El número de ramas P, se encontró aumentado en los desnutridos con 8% a los 30 días, en las ramas T a los 90 y en las tres a los 220 días. Los desnutridos con 6% mostraron un incremento de sus ramas P a los 30 días, y un decremento de sus ramas S a los 220 días de edad. La extensión lineal se encontró aumentada en las ramas T en los animales desnutridos con 8% de caseína a los 90 días, los

desnutridos con 6% hubo incrementos en las ramas S y un decremento de las ramas T a los 30 días. Asimismo, un aumento de las ramas P y S a los 90 días y reducción de las ramas P y T a los 220 días. El diámetro dendrítico, se encontró reducido en las ramas T de los animales desnutridos con 8% a los 30 días, también se observaron reducciones en las ramas S y T a los 90 y 220 días. Los animales desnutridos con 6% mostraron disminución de sus ramas T a los 30 días, reducción de las ramas P y un incremento de las ramas T a los 90 días, y a los 220 días mostraron una disminución de sus ramas T.

En la figura 7, se muestran los cambios debidos al -- factor edad sobre el número de las dendritas en cada uno de los tres tipos celulares y edades estudiadas. Las células multipolares (M), presentaron un incremento en el número de dendritas en los animales control entre 30 y 90 días y entre 90 y 220 días. Los desnutridos con 6%, mostraron incrementos en sus ramas S entre 90 y 220 días. Las células biramificadas (BR), -- mostraron aumentos en sus ramas T en los animales control entre 30 y 90 días y decrementos en sus ramas P entre 90 y 220 días. Las células bipolares (BP), mostraron aumentos en sus ramas P, S y T cuando se compararon los animales de 30 vs los de 90 días. Los animales desnutridos con 8% tuvieron incrementos en sus ramas S comparando los de 90 vs los de 220 días y un aumento de sus ramas T entre 30 vs 90 días. Los desnutridos con 6% incrementaron sus ramas S y T comparando los 30 vs 90 días y disminuyeron sus ramas S comparando los de 90 a los de 220 días.

TABLA I

EFFECTOS DE LA DESNUTRICION PRE Y POSNATAL CON 8% Y 6% DE CASEINA SOBRE EL TAMAÑO DEL SOMA, NUMERO DE DENDRITAS, EXTENSION LINEAL Y DIAMETRO DE LAS DENDRITAS PRIMARIAS (P), SECUNDARIAS (S) Y TERMINALES (T) DE LAS CELULAS MULTIPOLARES ESPINOSAS ESPACIADAS DE LA IV CAPA CORTICAL DEL AREA 17 EN RATAS DE TRES EDADES (30, 90 Y 220).

EDAD DIAS	DIETA	NO. DE CELULAS	NUMERO DE DENDRITAS			TOTAL DE DENDRITAS	EXTENSION LINEAL			DIAMETRO					
			P	S	T		P	S	T	P	S	T			
30	CONT. 25%	5	4.80	4.60	3.20	5	214.13	132.59	76.68	1.38	0.67	0.35			
			+0.84	+1.67	+1.10		+42.22	+23.99	+46.22				+0.37	+0.30	+0.16
			6.60	6.80	5.20		347.81	210.71	137.37				1.89	1.41	0.67
	EXP. 8%	5	+0.89	+0.84	+0.84	5	+37.17	+12.75	19.27	+0.18	+0.42	+0.33			
			4.40	5.00	3.40		142.29	106.39	42.70				0.91	0.67	0.32
			+0.55	+1.87	+1.14		+29.90	+32.99	+20.92				+0.51	+0.51	+0.11
	CONT. Vs EXP. 8%			+38%*	+48%*	+63%**	+25%*	+52%**	+79%**	+37%*	+110%***	+91%**			
	% DE CAMBIO														
	CONT. Vs EXP. 6%														
	% DE CAMBIO			-8%	+9%	+6%	-34%*	+20%	-44%**	-34%*	0%	-9%			
90	CONT. 25%	5	6.40	3.80	2.50	5	239.46	254.20	107.03	1.62	1.10	1.03			
			+1.50	+1.17	+0.80		+54.39	+35.01	+22.79				+0.40	+0.26	+0.26
			5.40	7.20	6.30		268.75	143.81	101.18				1.69	0.86	0.39
	EXP. 8%	5	+0.55	+1.10	+1.30	5	+57.94	+30.67	+23.40	+0.43	+0.26	+0.20			
			5.00	3.80	3.60		232.11	184.66	95.39				2.09	1.30	0.79
			+2.00	+0.75	+2.06		+88.18	+94.12	+25.26				+0.47	+0.45	+0.25
	CONT. Vs EXP. 8%			-16%	+89%**	+152%***	+12%	-7%	-6%	+4%	-22%	-62%**			
	% DE CAMBIO														
	CONT. Vs EXP. 6%														
	% DE CAMBIO			-22%	0%	+44%*	+3%	+20%	-11%	+29%*	+18%	-23%			
220	CONT. 25%	5	5.00	5.40	3.80	5	194.56	116.01	90.77	2.36	1.89	1.14			
			1.41	+0.49	+0.75		+29.17	+38.03	+31.80				+0.21	+0.18	+0.43
			5.80	7.60	6.20		336.00	185.29	108.38				1.65	0.88	0.35
	EXP. 8%	5	+0.84	+0.55	+0.45	5	+75.18	+30.45	+36.94	+0.40	+0.31	+0.16			
			5.40	5.40	2.80		236.74	157.87	100.63				1.62	1.02	0.87
			+1.02	+2.06	+0.75		+75.18	+34.86	+13.87				+0.40	+0.35	+0.27
	CONT. Vs EXP. 8%			+16%	+41%*	+63%**	+73%**	+59%**	+19%	-30%*	-53%**	-69%**			
	% DE CAMBIO														
	CONT. Vs EXP. 6%														
	% DE CAMBIO			+8%	0%	-26%*	-31%*	-46%*	-24%	-31%*	-46%*	-24%			

Los resultados se expresan dando el valor medio y la desviación estandar ( $\pm$ ).

\* P < 0.05; \*\* P < 0.01, \*\*\* P < 0.001. Pruebas: "t" Student y "U" Mann Whitney.

EFECTOS DE LA DESNUTRICION PRE Y POSNATAL CON 8% y 6% DE CASEINA SOBRE EL TAMAÑO DEL SOMA, NUMERO DE DENDRITAS, EXTENSION LINEAL Y DIAMETRO DE LAS DENDRITAS PRIMARIAS (P), SECUNDARIAS (S) Y TERMINALES (T) DE LAS CELULAS BIRAMIFICADAS ESPINOSAS ESPACIADAS DE LA IV CAPA CORTICAL DEL AREA 17 EN RATAS DE TRES EDADES (30, 90 y 220 DIAS).

EDAD DIAS	DIETA	NO. DE CELULAS	NUMERO DE DENDRITAS			TOTAL DE DENDRITAS	EXTENSION LINEAL			DIAMETRO		
			P	S	T		P	S	T	P	S	T
30	CONT. 25%	5	4.40	4.80	4.00	10	219.24	141.67	61.94	1.65	1.00	0.71
			+0.80	+1.60	+1.10		+102.96	+37.81	+34.03	+0.64	+0.55	+0.64
			5.20	9.40	6.60		347.91	184.59	139.97	1.69	1.12	0.45
	EXP. 8%	5	+2.49	+1.67	+1.34	10	+49.99	+35.81	+28.71	+0.26	+0.33	+0.16
			4.20	4.80	4.00		220.89	131.08	69.35	1.85	1.26	0.61
			+1.17	+1.60	+0.89		+60.84	+32.12	+18.66	+0.37	+0.40	+0.22
	CONT. Vs EXP. 8%											
	% DE CAMBIO			+18%	+96%**	+65%**	+59%**	+30%*	+45%**	+2%	+12%	-37%**
	CONT. Vs EXP.6%											
	% DE CAMBIO			-5%	0%	0%	+0.8%	-7%	-28%*	+12%	-26%*	+14%
90	CONT. 25%	5	4.40	5.20	5.40	10	243.57	147.19	61.94	1.93	1.10	0.65
			+1.53	+1.20	+1.17		+57.47	+25.73	+18.25	+0.42	+0.42	+0.21
			5.80	9.30	6.40		323.06	184.17	128.14	1.83	1.12	0.53
	EXP. 8%	5	+0.84	+2.41	+1.52	10	+59.01	+44.01	+35.90	+0.42	+0.33	+0.28
			4.00	4.60	3.80		261.77	145.77	69.39	1.46	0.73	0.47
			+1.26	+1.50	+2.23		+57.22	+21.93	+22.35	+0.45	+0.28	+0.42
	CONT. Vs EXP.8%											
	% DE CAMBIO			+32%*	+81%**	+19%	+33%*	+25%*	+100%***	-5%	+3%	+18%
	CONT. Vs EXP.6%											
	% DE CAMBIO			-9%	-12%	-30%*	+7%	-7%	+12%	-24%	-34%*	-28%*
220	CONT. 25%	5	3.80	6.00	3.80	10	311.43	182.90	89.10	1.85	1.16	1.04
			+0.75	+1.79	+1.17		+83.25	+43.49	+24.37	+0.41	+0.51	+0.54
			5.20	7.60	5.60		354.13	162.30	159.26	1.85	0.98	0.33
	EXP. 8%	5	+2.23	+1.14	+0.89	10	+65.41	+24.97	+26.53	+0.27	+0.13	+0.14
			2.80	5.00	3.20		293.11	163.37	85.95	1.56	0.93	0.47
			+0.75	+1.67	+0.75		+109.74	+21.14	+32.86	+0.43	+0.55	+0.31
	CONT. Vs EXP.8%											
	% DE CAMBIO			+37%*	+27%*	+47%*	+14%	-11%	+79%**	0%	-16%	-68%**
	CONT. Vs EXP.6%											
	% DE CAMBIO			-26%*	-17%	-16%	-6%	-11%	-4%	-16%	-20%	-55%**

Los resultados se expresan dando el valor medio y la desviación estandar ( $\pm$ ).

\* P < 0.05, \*\* P < 0.01, \*\*\* P < 0.001. Pruebas: "t" Student y "U" Mann Whitney.

TABLA III

EFFECTOS DE LA DESNUTRICION PRE Y POSNATAL CON 8% y 6% DE CASEINA SOBRE EL TAMAÑO DEL SOMA, NUMERO DE DENDRITAS, EXTENSION LINEAL, Y DIAMETRO DE LAS DENDRITAS PRIMARIAS (P), SECUNDARIAS (S) Y TERMINALES (T) DE LAS CELULAS BIPOLARES ESPINOSAS ESPACIADAS DE LA IV CAPA CORTICAL DEL AREA 17 EN RATAS DE TRES EDADES (30, 90 y 220 DIAS).

EDAD DIAS	DIETA	NO. DE CELULAS	NUMERO DE DENDRITAS			TOTAL DE DENDRITAS	EXTENSION LINEAL TOTAL			DIAMETRO				
			P	S	T		P	S	T	P	S	T		
30	CONT.	25%	5	2.20	2.60	2.40	10	310.04	175.15	141.21	1.51	0.90	1.00	
				+4.0	+8.0	+8.0		+123.71	+67.46	+34.32	+5.0	+6.4	+4.7	
	EXP.	8%	5	2.80	2.60	2.40	10	343.01	190.13	140.88	1.67	1.06	0.65	
					+4.5	+4.5	+1.34		+70.91	+36.57	+23.78	+3.1	+2.9	+3.1
	EXP.	6%	5	2.80	3.20	2.40	10	242.29	121.19	62.99	1.38	0.89	0.35	
				+4.0	+7.5	+4.0		+93.93	+37.37	+27.81	+4.6	+4.2	+1.6	
CONT. Vs EXP.	8%			+27%*	0%	0%		+11%	+14%	-0.2%	+11%	+7%	-35%*	
% DE CAMBIO														
CONT. Vs EXP.	6%			+27%*	+23%	0%		-22%	+31%*	-55%**	-9%	-10%	-65%**	
% DE CAMBIO														
90	CONT.	25%	5	2.80	4.20	3.20	10	353.63	181.27	73.83	1.95	1.10	0.28	
				+7.5	+7.5	+1.47		+144.76	+32.58	+34.99	+4.5	+3.9	+2.1	
	EXP.	8%	5	2.80	4.20	5.20	10	338.20	156.09	105.49	1.77	0.48	0.40	
					+4.4	+8.3	+1.09		+94.85	+21.58	+27.29	+4.2	+1.9	+1.3
	EXP.	6%	5	2.80	4.20	3.40	10	225.56	136.48	67.56	1.36	0.81	0.36	
				+4.0	+7.5	+1.47		+37.80	+35.61	+13.00	+3.3	+3.0	+1.6	
CONT. Vs EXP.	8%			0%	0%	+63%**		-4%	-14%	+39%*	-9%	-56%**	-43%*	
% DE CAMBIO														
CONT. Vs EXP.	6%			0%	0%	+6%		+36%*	+25%*	-8%	-30%*	-17%	+29%*	
% DE CAMBIO														
220	CONT.	25%	5	2.60	4.20	3.40	10	386.19	184.43	115.12	2.06	1.24	0.61	
				+4.9	+9.8	+1.37		+90.47	+77.90	+28.60	+5.3	+5.1	+3.0	
	EXP.	8%	5	3.40	7.60	5.20	10	376.02	180.30	108.30	1.65	0.88	0.35	
					+5.4	+1.51	+2.48		+53.01	+30.43	+36.43	+3.9	+3.0	+1.5
	EXP.	6%	5	2.20	3.00	2.60	10	281.34	175.06	79.30	1.62	1.24	0.45	
				+4.0	+1.10	+8.0		+115.08	+113.08	+20.19	+3.8	+4.5	+2.3	
CONT. Vs EXP.	8%			+31%*	+58%**	+53%**		-3%	+0.4%	-6%	-20%	-29%*	-43%*	
% DE CAMBIO														
CONT. Vs EXP.	6%			-15%	-29%*	-24%		-27%*	-11%	-31%*	-21%	0%	-26%*	
% DE CAMBIO														

Los resultados se expresan dando el valor medio y la desviación estandar (+).

\* P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001 Pruebas: "t", Student y "U" Mann Whitney.

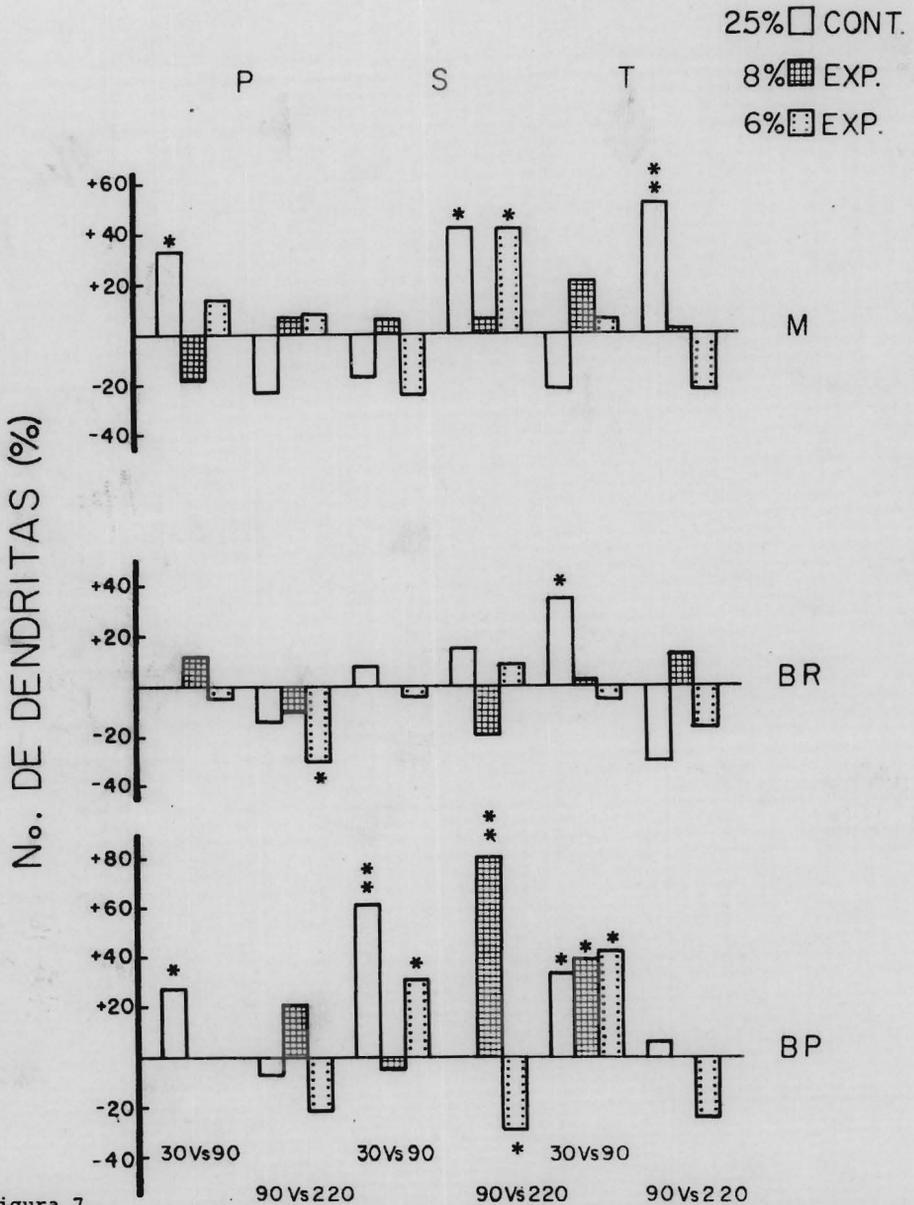


Figura 7. Porcentajes de incremento o decremento producidos por la edad en los número de dendritas primarias (P), secundarias (S) y terminales (T), en los tres tipos celulares estudiados; Multipolares (M), Biramificadas (BR) y Bipolares (BP), entre 30 vs 90 y entre 90 vs 220 días. Las células BR, mostraron el mayor número de cambios, Significancias, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  y \*\*\* $P < 0.001$ .

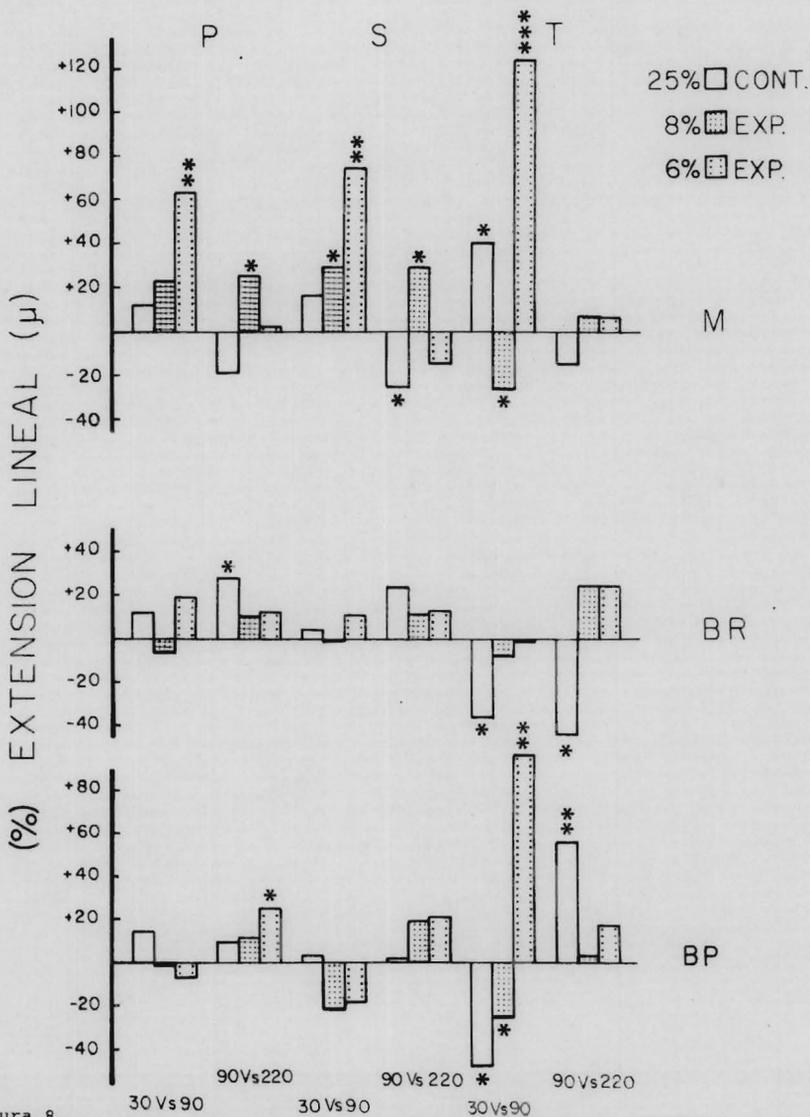


Figura 8. Porcentajes de incrementos o decrementos producidos por la edad en la extensión lineal de las tres ramas; primarias (P); secundarias (S) y terminales (T) en las tres células estudiadas, Multipolares (M); Biramifid (BR) y Bipolar (BP), entre 30 vs 90 y entre 90 vs 220 días. Las células M, mostraron el mayor número de cambios. Significancias, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  y \*\*\* $P < 0.001$ .

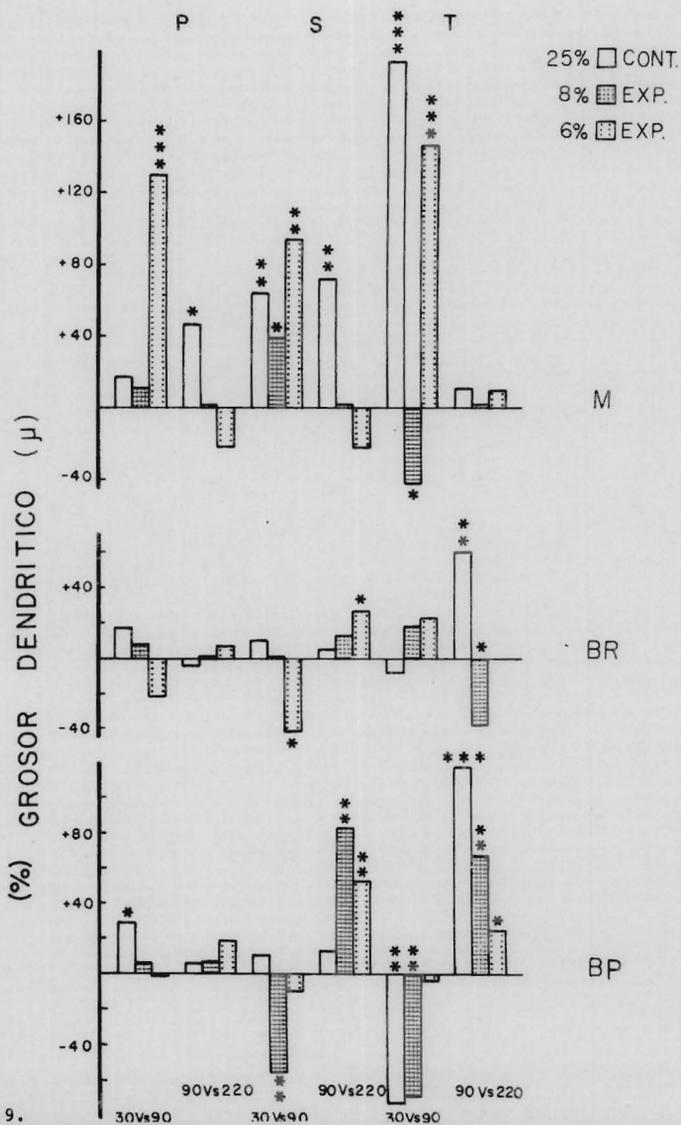


Figura 9. Porcentajes de incremento o decremento producidos por la edad en el grosor de las ramas primarias (P), secundarias (S) y terminales (T), de las tres células estudiadas, Multipolares (M), Biramificadas (BR) y Bipolares, entre 30 vs 90 y entre 90 vs 220 días de edad. Las células M, mostraron el mayor número de cambios. Significancias, \*P<0.05, \*\*P<0.01 y \*\*\*\*P<0.001.

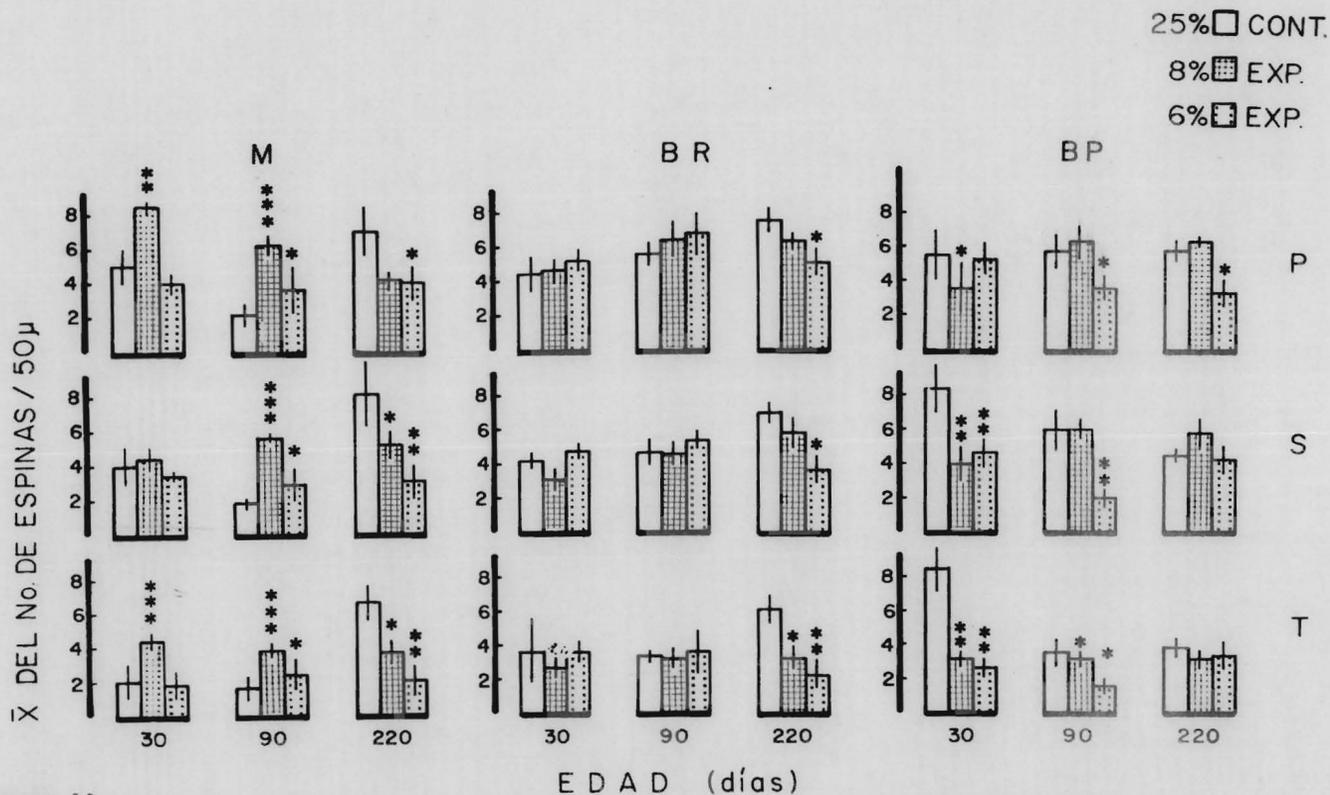


Figura 10

Densidad de espinas dendríticas, en segmentos de 50 micras en las dendritas primarias (P), secundarias (S) y terminales (T), de los tres tipos celulares estudiados, Multipolares (M), Biramificadas (BR) y Bipolares (BP) en las tres edades, 30, 90 y 220 días. Las células M, presentaron el mayor número de cambios en los animales desnutridos con 8%, hubo incrementos en las edades de 30 y 90 días y decrementos a los 220 días. Significancias, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$ .

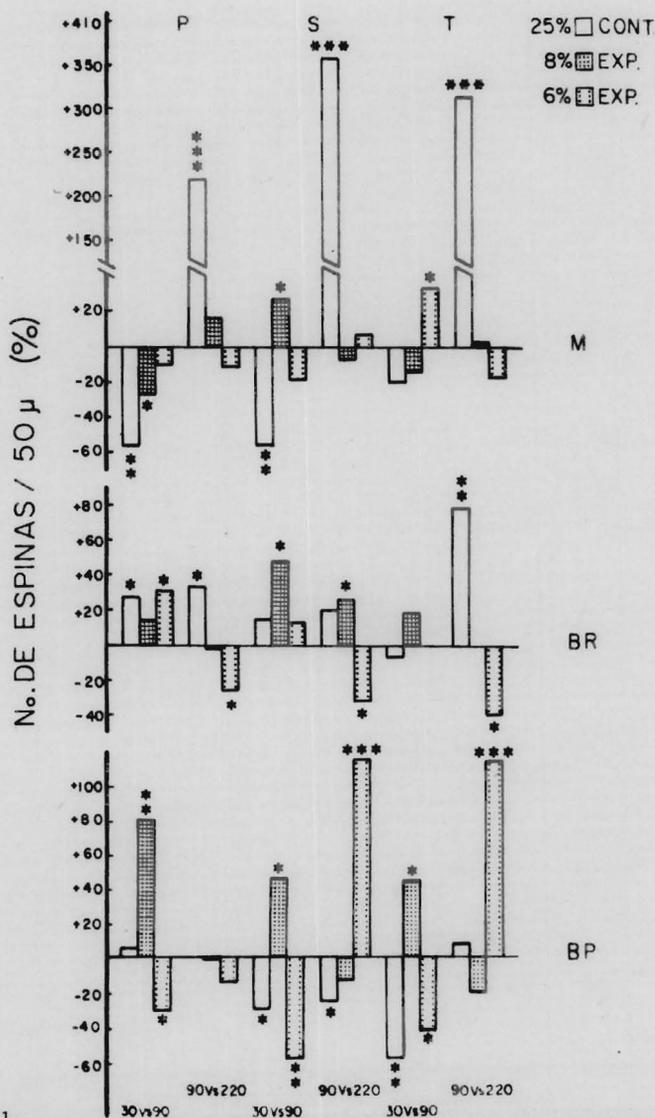


Figura 11. Porcentajes de incrementos o decrementos producidos por la edad en el número de espinas dendríticas en las ramas, primarias (P), secundarias (S) y terminales (T), de los tres tipos celulares estudiados, Multipolares (M), Biramificadas (BR) y Bipolares (BP), entre 30 vs 90 y entre 90 vs 220 días de edad. Las M, mostraron el mayor número de cambios. Significancias, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$ .

En la figura 8, se muestran los cambios debidos a la edad en la extensión dendrítica lineal en las células M, los animales control, presentaron un decremento de sus ramas S entre 90 y 220 días y un aumento de sus ramas T entre 30 y 90 días. Los animales desnutridos con 8% incrementaron sus ramas P y S entre 90 vs 220 días y de sus ramas S entre 30 vs 90 días, y un decremento de sus ramas T en estas mismas edades. Los desnutridos con 6% mostraron un incremento de sus tres ramas entre 30 vs 90 días. Las células BR, mostraron incremento de sus ramas P entre 90 vs 220 días y reducción de sus ramas T entre 30 vs 90 y entre 90 vs 220 días en los animales normales. Los desnutridos no mostraron cambios significativos en estas células. Las células bipolares, en los animales control mostraron un decremento de sus ramas T entre 30 vs 90 días. Los desnutridos con 8% presentaron un decremento de sus dendritas T entre 30 vs 90 días. Los desnutridos con 6% mostraron un incremento de sus ramas P entre 90 vs 220 días y en sus ramas T entre 30 vs 90 días.

La figura 9, muestra las relaciones con la edad en el grosor dendrítico de las tres ramas, en las tres células y en las tres condiciones experimentales. Así las neuronas M, mostraron incrementos de sus dendritas P y S entre 90 vs 220 días y aumentos de las ramas S y T entre 30 vs 90 en los controles. Los desnutridos con 8% mostraron incremento de sus ramas S entre 90 vs 220 días y un decremento de sus ramas T entre 90 y 220 días. Los animales desnutridos con 6% mostraron un incre

mento de sus ramas P, S y T entre 30 vs 90 días. Las células BR, de los controles presentaron un incremento de sus ramas T entre 90 vs 220 días. Los desnutridos con 8%, mostraron una reducción en estas mismas ramas y edades. Los desnutridos con 6% tuvieron decrementos de sus ramas S entre 30 vs 90 días y luego incrementos en sus ramas S entre 90 vs 220 días. Las células BP, en los animales control tuvieron un incremento de sus ramas P entre 30 vs 90 días, un incremento de sus ramas T entre 30 vs 90 y enseguida un aumento entre 90 vs 220 días. Los desnutridos con 8% mostraron reducción en sus ramas S y T entre 30 vs 90 días y un aumento en sus ramas S y T entre 90 y 220 días. Los desnutridos con 6% tuvieron incrementos de sus ramas S y T entre 90 y 220 días.

La figura 10, muestra la densidad de las espinas dendríticas de las tres células M, BR y BP en las tres condiciones experimentales (25%, 8% y 6%) y en las tres ramas dendríticas, P, S y T. La desnutrición en las células M, causó 5 incrementos en los tres segmentos dendríticos en 30 y 90 días. A los 220 días hubo una disminución en las ramas S y T. Los animales desnutridos con 6% de caseína, tuvieron incrementos en las tres ramas en la edad de 90 días y luego decremento en las tres ramas a los 220 días. Las células BR, presentaron cambios en los animales desnutridos con 8% descendiendo las ramas T en los 30 y 220 días. Los animales desnutridos con 6% tuvieron decrementos en sus tres ramas a los 220 días de edad. En las células BP, los desnutridos tuvieron un descen-

figuras 12 a la 19. El tamaño del cuerpo, se vió afectado por la desnutrición en los animales desnutridos con 8% de caseína en el eje menor a los 90 días, y en los desnutridos con 6% en su eje mayor en esta misma edad. El número de ramas salientes del soma se encontraron aumentadas en los animales desnutridos con 8% a los 220 días, en los desnutridos con 6%, el número se incrementó a los 30 días y luego se redujo a los 90 días (Fig. 13).

El número de dendritas que cruzaron cada círculo fué diferente en cada condición experimental, así en el primer círculo, se observó un incremento de las ramas en los animales -- desnutridos con 8% y 6% en los 30 y 90 días. Este incremento persistió en el segundo y en el tercer círculo, sólo en los desnutridos con 6% a los 30 días. En el tercer círculo, se encontraron decrementos significativos del número de ramas en los animales desnutridos con 6% a los 90 y 220 días. En el último círculo, se observó un decremento de las ramas en los desnutridos con 6% a los 90 y 220 días. Cuando se graficaron los totales del número de intersecciones dendríticas en los cuatro círculos, y en las tres edades estudiadas, sólo se observó un incremento de las ramas en los animales desnutridos con 6% a los 30 días (Fig. 14).

La figura 15, muestra los resultados del número de ramas salientes del soma, y del número de ramas intersectando los cuatro círculos pero de una manera lineal, en donde se observa claramente una tendencia de las células multipolares es-

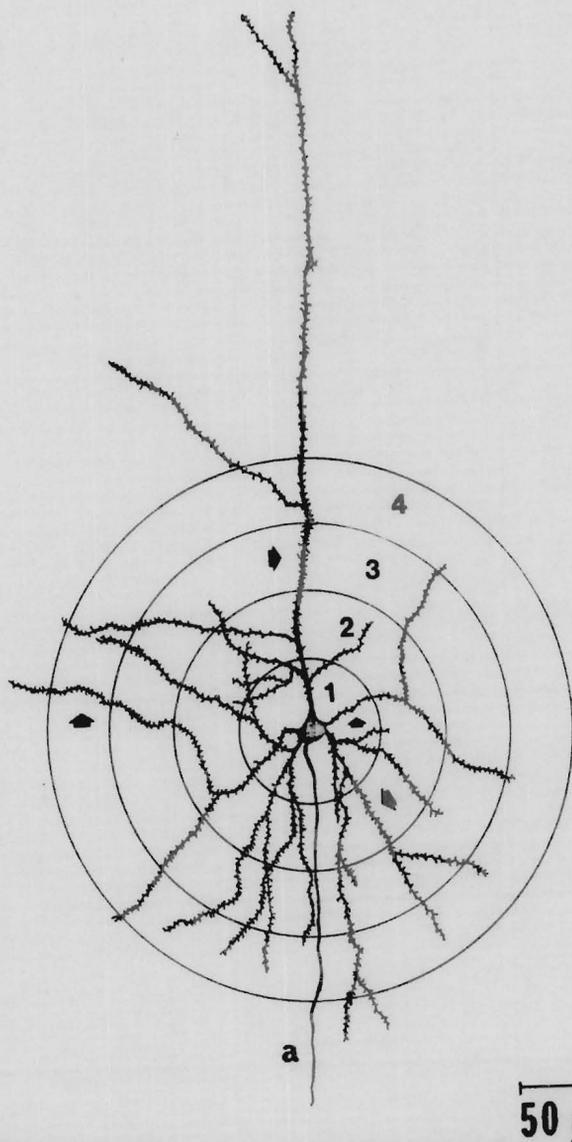


Figura 12.  
 Dibujo a cámara lúcida de una célula multipolar espinosa y las mediciones efectuadas en ella; eje mayor y menor del soma, número de ramas salientes del soma, número de ramas intersectando cada uno de los cuatro círculos concéntricos y el número de espinas dendríticas en un segmento de 50 micras, indicados por las flechas. a= axón.

CUADRO I

COMPONENTES	D I E T A S		
	Normal	Hipoprotéinicas	
	25% Caseína	8% Caseína	6% Caseína
Proteína	21.8	7.0	5.3
Grasa	15.4	15.1	15.0
Carbohidratos	50.9	67.9	68.0
Mezcla de Sales*	4.7	4.7	4.7
Mezcla de Vitaminas	1.0	1.0	1.0
Agua	2.2	1.0	1.2
Elemento no nutritivo	4.2	4.2	4.2
Kcal/g	4.3	4.3	4.3

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

\* Se agregaron fosfato de calcio monobásico y carbonato de Zinc.

pinosas a incrementar el número de ramas entre las 100 a 150 micras desde el soma, en los animales control. Los desnutridos siguen este patrón pero con un número menor de ramas, sin embargo, a los 220 días se observa un claro adelanto de las dos curvas en los desnutridos con 8% y 6% de caseína. En la figura 16, se observan los cambios producidos por la edad en este parámetro del número de dendritas intersectando cada círculo, Los controles presentaron decrementos en el primer círculo y luego un aumento en el cuarto círculo entre 90 y 220 días, los desnutridos con 8% de caseína redujeron el número de intersecciones en el círculo segundo pero en el cuarto, las aumentaron entre 30 vs 90 días. Los animales desnutridos con 6% mostraron decrementos de sus ramas en los cuatro círculos entre 30 vs 90 días; se incrementó en el cuarto entre 90 vs 220 días. Cuando se sumaron los cuatro círculos sólo se observó que los animales desnutridos con 6% mostraron un decremento entre los 30 y 90 días.

Finalmente, la densidad de las espinas dendríticas, se midió en su segmento de 50 micras que correspondían a cada círculo, como lo indica la figura 12. Las diferencias entre los controles y desnutridos se muestran en la figura 17. Así los animales desnutridos con 8% mostraron decrementos en la densidad de las espinas a los 90 días, y los animales desnutridos con 6% presentaron decrementos a los 30 días y luego incrementos a los 90 días en el primer círculo. Los cambios en el segundo correspondieron sólo a la edad de 220 días en donde ambos animales desnutridos mostraron decrementos. En el tercer

círculo los cambios correspondientes a la edad de 90 días, con un decremento en la densidad de las espinas en los animales desnutridos con el 6% en el cuarto círculo. Los cambios que se observaron en las edades de 90 y 220 días fueron decrementos en los dos animales desnutridos con 8% y 6% de caseína. -- Cuando se graficó el total de los cambios ocurridos en los cuatro círculos y en las tres edades estudiadas, se observaron dos decrementos, uno a los 90 días en los desnutridos con 6% y uno a los 220 días en los animales desnutridos con 8%. En la figura 18, se graficaron de una manera lineal el número de espinas dendríticas medidas en cada círculo y en cada edad, observándose una tendencia a incrementarse el número de espinas entre el segundo y el tercer círculo en las edades de 30 y 90 días en los controles; no así a los 220 días en donde el incremento persiste en el cuarto círculo. Los animales desnutridos siguen a los valores del control, pero en los 90 y 220 días hay una clara reducción particularmente en el tercero y cuarto círculos.

El estudio comparativo de los cambios debidos al factor edad se muestran en la figura 19, los controles presentaron decrementos de espinas en el primer círculo entre 90 vs 220 días y en el segundo círculo entre 30 vs 90. Posteriormente hubo aumento en el número de espinas entre 90 vs 220 días en el segundo y cuarto círculo. Los animales desnutridos con 8% tuvieron un decremento en los círculos primero, segundo y cuarto entre 30 vs 90 días y luego un solo incremento entre 90 y 220

días en el cuarto círculo. Los desnutridos con 6% mostraron el mayor número de cambios, así entre 30 vs 90 días hubo un incremento en el primer círculo y un decremento entre 90 vs 220 días en este mismo círculo. Enseguida entre 30 vs 90 - presentaron decrementos en el segundo, tercero y cuarto círculo. El último círculo presentó incrementos muy notorios en tre 90 vs 220 días. Cuando los totales fueron graficados, se pudo observar un decremento en los animales desnutridos con - 8% entre 30 vs 90 días, así como un decremento en los animales desnutridos con 6% y luego un incremento en estos mismos animales.

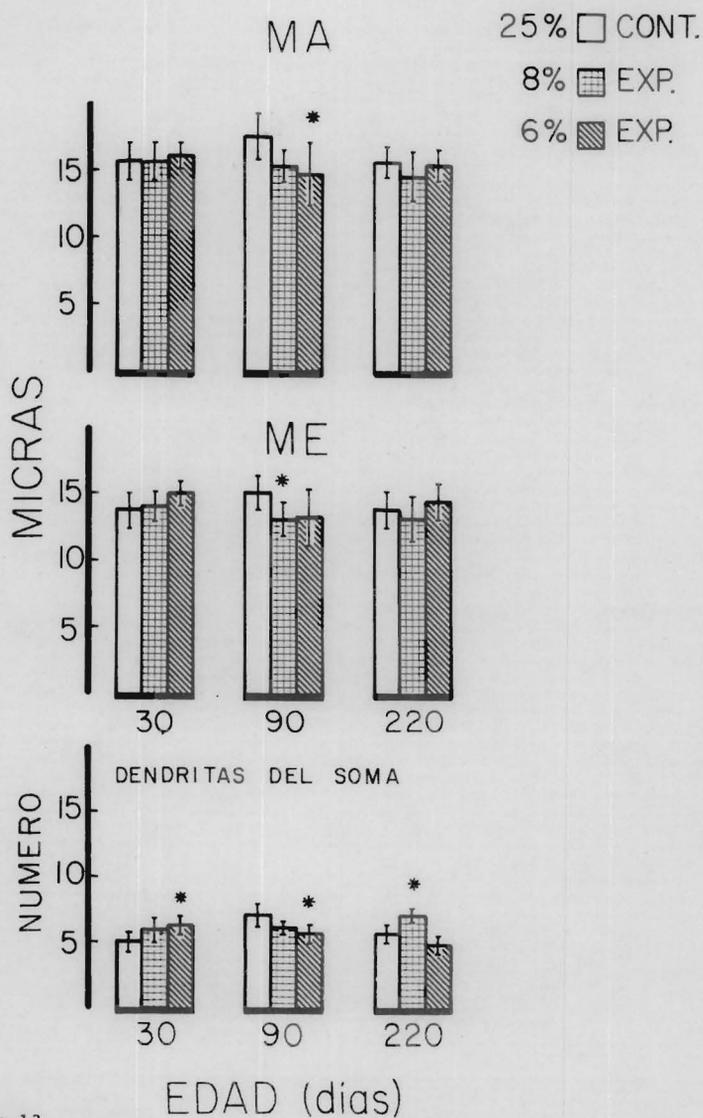


Figura 13. Gráficas que muestran en la parte superior, el eje Mayor (MA) y el eje Menor (ME) del soma de las células multipolares espinosas, en las tres condiciones experimentales y en las tres edades estudiadas. En la parte inferior se muestra el número de ramas salientes del soma. Significancias, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  y \*\*\* $P < 0.001$ .

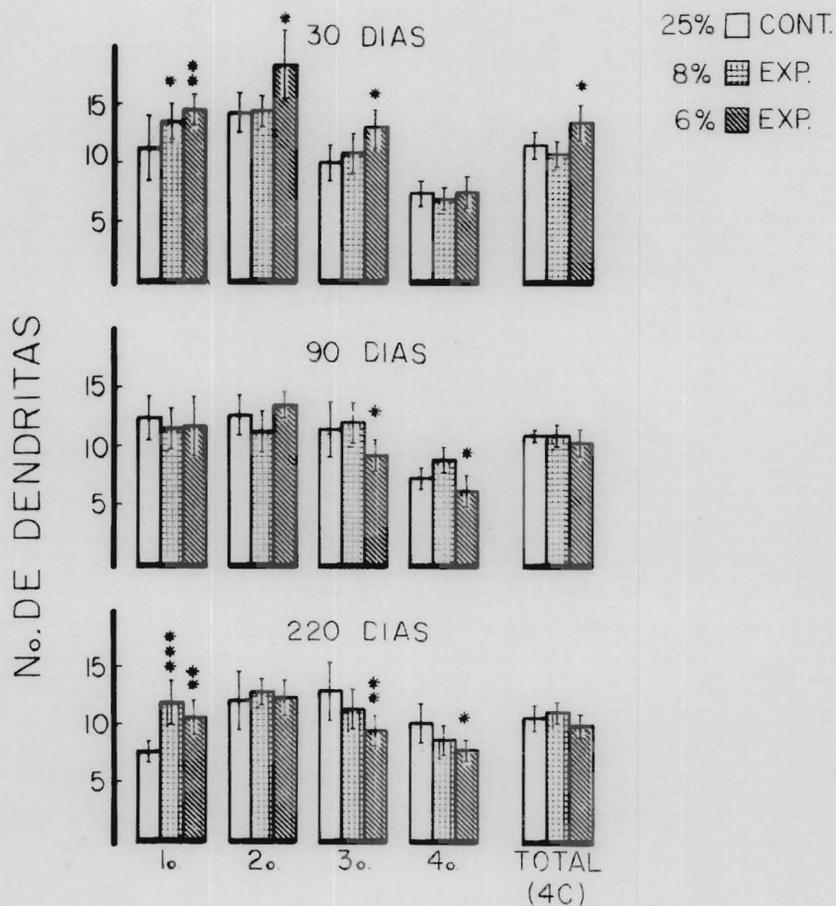


Figura 14. Número de ramas intersectando cada círculo de 50 micras, en las tres condiciones experimentales y en las tres edades estudiadas de las células multipolares espinosas. Los animales desnutridos presentaron incrementos a los 30 y 90 días. Significancias, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  y \*\*\* $p < 0.001$ .

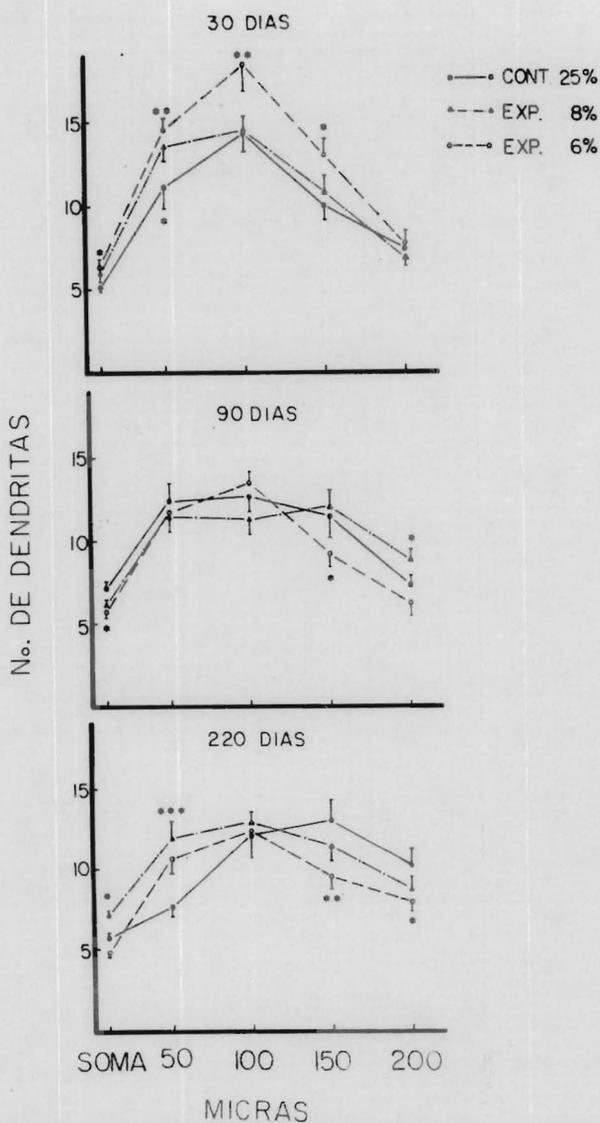


Figura 15  
 Número de ramas desde el soma e intersecciones de cada uno de los cuatro círculos, de las células multipolares espinosas, en un total de 200 micras. Los animales control presentaron a los 30 días incrementos a las 100 micras del número de ramas, los desnutridos presentaron mayor número de ramas en esta misma edad. Significancias, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  y \*\*\* $P < 0.001$ .

## PORCENTAJE DEL N<sup>o</sup>. DE DENDRITAS

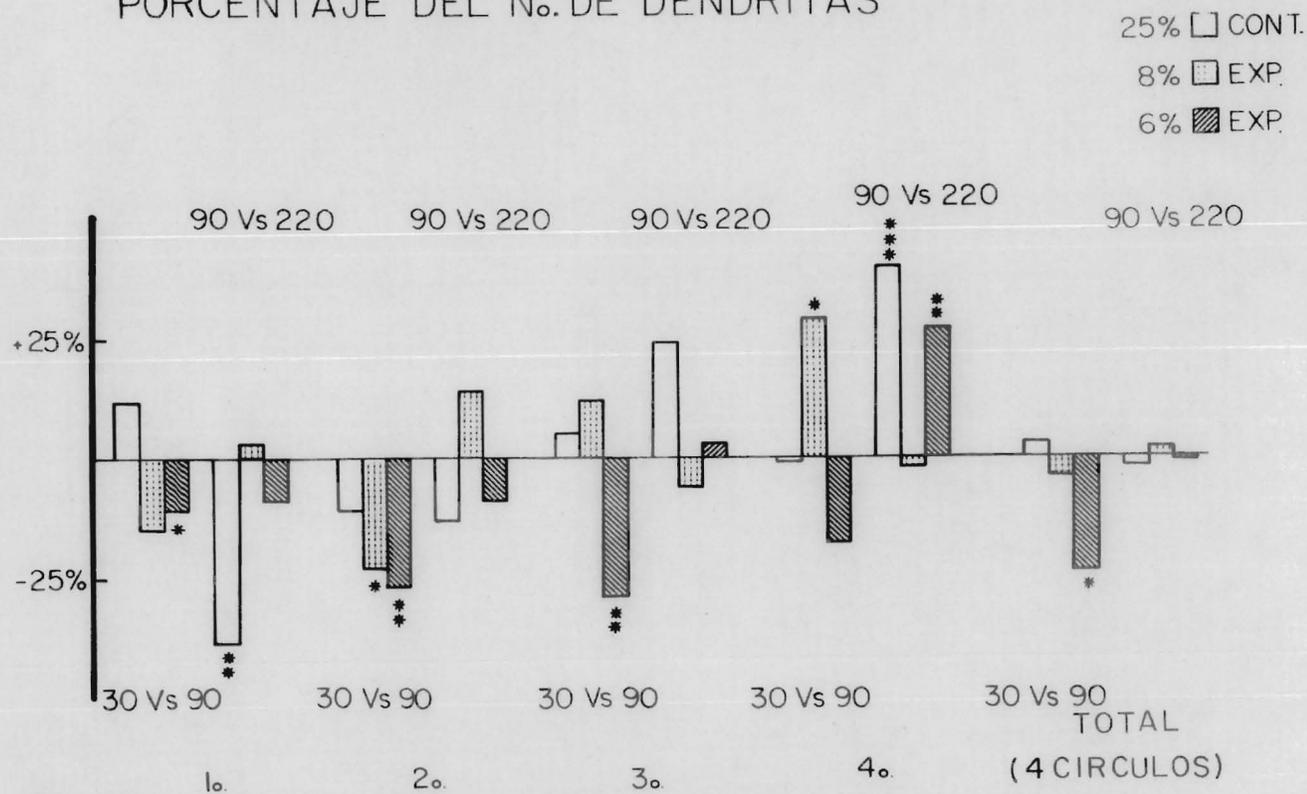


Figura 16.

Porcentaje de cambio producido por la edad en el número de dendritas en las células multipolares espinosas, en cada uno de los cuatro círculos medidos, entre las edades de 30 vs 90 y entre 90 vs 220 días. Los animales desnutridos con 6%, presentaron reducciones entre 30 vs 90 en los tres primeros círculos. A la derecha se graficaron los totales y solamente los desnutridos con 6% mostraron decrementos del número de ramas entre 30 vs 90 días. Significancias, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  y \*\*\* $P < 0.001$ .

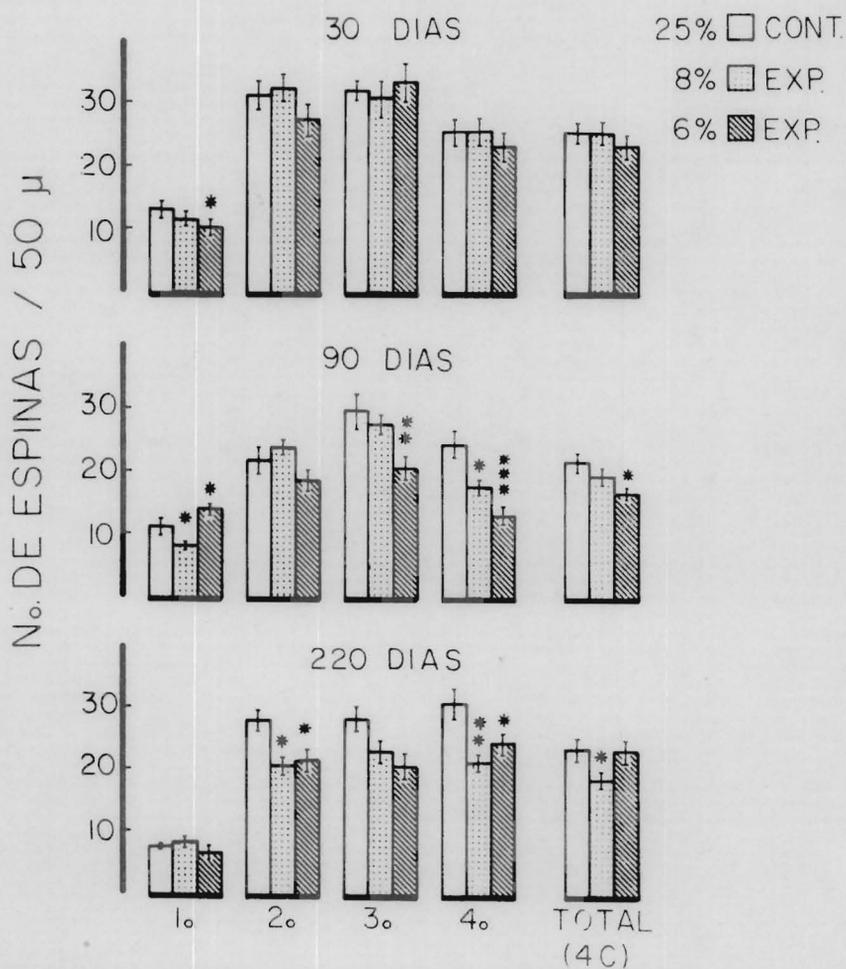


Figura 17. Número de espinas dendríticas en cada círculo en las células multipolares espinosas, en las tres condiciones experimentales y en las tres edades estudiadas. Los animales desnutridos presentaron el mayor número en este parámetro a las edades de 90 y 220 días. Significancias, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  y \*\*\* $P < 0.001$ .

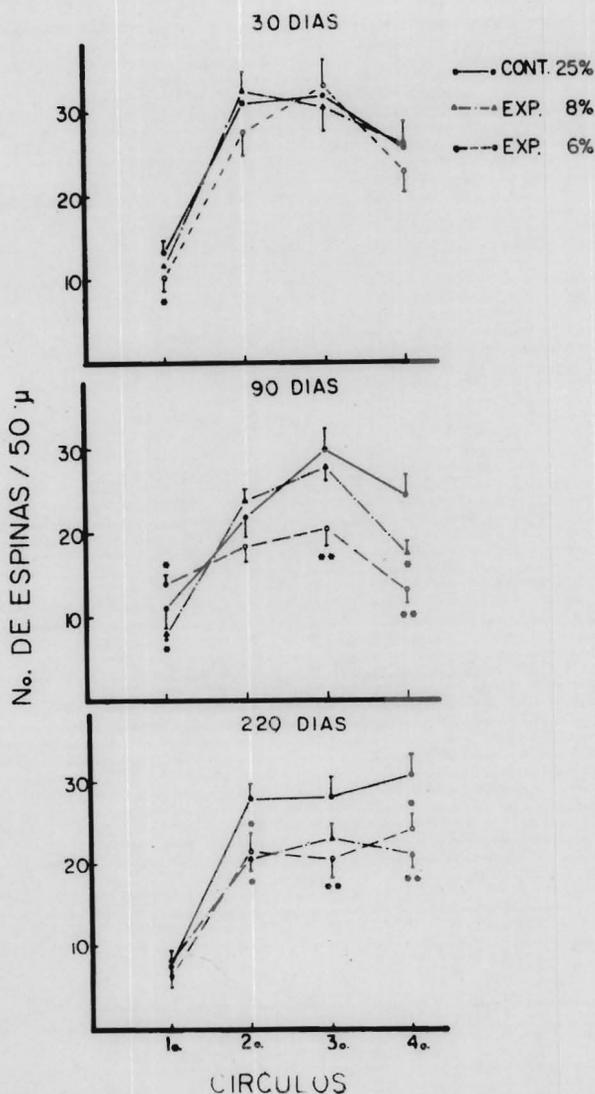


Figura 18

Número de espinas dendríticas en los cuatro círculos en las células multipolares espinosas, en las tres condiciones experimentales y en las tres edades estudiadas. Los animales control presentaron incrementos en el número de espinas en el segundo círculo a los 30 días, en el tercer círculo a los 90 días y en el segundo y cuarto círculos a los 220 días de edad. Los desnutridos presentaron un número reducido de espinas en los dos últimos círculos, en las edades de 90 y de 220 días. Significancias, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  y \*\*\* $P < 0.001$ .

## PORCENTAJE DEL N<sup>o</sup>. DE ESPINAS.

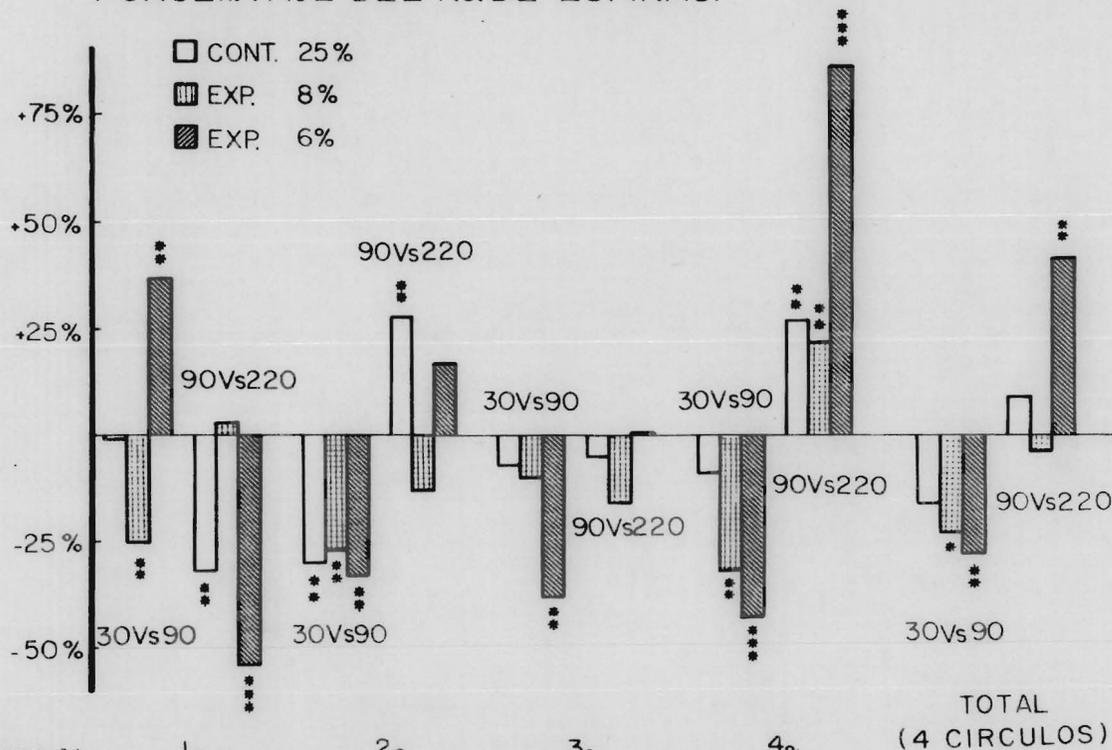


Figura 19. 1. 2. 3. 4. **TOTAL (4 CIRCULOS)**  
 Porcentaje de cambios producidos por la edad en el número de espinas dendríticas de las células multipolares espinosas, en cada uno de los cuatro círculos medidos y en un segmento de 50 micras, entre 30 vs 90 y entre 90 y 220 días. El mayor número de cambios correspondió a los animales desnutridos con 6%, seguidos de los animales desnutridos con 8% de caseína. A la derecha se graficaron los totales, en donde se observa que el mayor número de reducciones correspondió a los animales desnutridos entre 30 vs 90 días. Significancias, \*P<0.05, \*\*P<0.01 y \*\*\*P<0.001.

## DISCUSION.

Efectos de la DesnutriciónSobre las CélulasNo Piramidales.

Los hallazgos más sobresalientes del presente estudio revelan que la desnutrición y la edad, afectaron en forma diferente el número de ramas, la extensión lineal, el diámetro y la densidad de espinas dendríticas en las distintas células estudiadas. En general en los tres tipos celulares y en las tres edades analizadas, los animales desnutridos con 8% de caseína mostraron cambios reflejados en un aumento de estos parámetros. En cambio en los animales desnutridos con 6% los resultados fueron en el sentido inverso. Cuando comparamos los efectos producidos por la edad, observamos que las células multipolares espinosas espaciadas, presentaron el mayor número de cambios, los otros tipos celulares mostraron decrementos entre los 30 y los 90 días de edad. Las células multipolares espinosas, presentaron también incrementos en el número de ramas, en la densidad de dendritas y de espinas a los 30 días de edad, cuando se compararon con sus controles. En relación a los cambios por la edad, se observó que los animales desnutridos con 6% de caseína mostraron el mayor número de cambios entre 30 vs 90 días, seguidos de los desnutridos con 8%. Entre las edades de 90 vs 220 días, fueron los controles los que tuvieron el mayor número de cambios.

Los cambios morfométricos encontrados en las dendritas y en las espinas de los cuatro tipos celulares, en las tres edades estudiadas, parecen relacionarse importantemente con la gran plasticidad del área 17 de la rata para responder a los estímulos ambientales, como es la desnutrición. La edad produce cambios importantes en las ramas dendríticas de esa área, así como en la densidad de las espinas. Las dendritas adquieren su patrón de ramificación antes del día 30 posnatal, y sufren modificaciones y cambios a través de la vida del animal ó por modificación del medio ambiente. Dicho de otro modo, el efecto del medio ambiente sobre el desarrollo neuronal puede verse de dos maneras: por un lado se tendrfa la acción sobre las neuronas de desarrollo temprano y rápido (células piramidales corticales Miller y Peters 1981), y por otro sobre las neuronas de desarrollo tardío y lento (neuronas no piramidales corticales Parnavelas y cols., 1983). En estas últimas, el crecimiento neuronal irá modificándose en relación casi directa a los cambios del medio ambiente. Así si la desnutrición es un factor ambiental que influye importantemente en el desarrollo cortical, posiblemente operaría un mecanismo de readaptación plástica a esta nueva condición. En el presente trabajo no sólo se da apoyo a este hecho, sino que también esta respuesta adaptativa, es diferente y específica para cada tipo celular no piramidal.

Los animales desnutridos pre y posnatalmente con 8% y 6% de caseína a las tres edades de 30, 90 y 220 días mostraron

reducciones significativas del peso corporal y cerebral. Estas reducciones, en los animales desnutridos con 8%, fueron menos drásticas que en las ratas alimentadas con 6% de caseína. El desarrollo cerebral en el feto no depende solamente del acceso de nutrientes disponibles a través de la placenta sino también de la cantidad de grasas y proteínas y otros nutrientes almacenados por la madre durante el período de la gestación temprana (Miller, 1970). Si el estatus nutricional de la madre, es un índice de la cantidad de estas reservas, las madres desnutridas con 8% y 6% de caseína tendrán bajo peso y por lo tanto no tendrán suficientes reservas disponibles para el correcto desarrollo de sus productos. Así, la composición de la dieta ingerida por la madre lactante en el presente estudio, permite especular acerca de las posibles consecuencias sobre el retardo en el crecimiento fetal. Por otra parte, si los carbohidratos son la mayor fuente de calorías disponible en las dietas que aquí se han empleado, entonces éstos deberán suplir las demandas de energía del feto, e incluso si son insuficientes se movilizarán las reservas de grasa de la madre. Sin embargo, cuando las reservas de proteína de la madre son bajas y su dieta esencialmente se compone de carbohidratos (como es el caso de los animales desnutridos), entonces la proteína esencial para el crecimiento fetal deberá obtenerse, entre otros a través de un catabolismo acelerado del tejido muscular materno. Este proceso no podrá continuarse de una manera indefinida ya que llegará un momento en el que la madre competirá con el feto por

los aminoácidos disponibles, a expensas del crecimiento retardado del feto. Por consiguiente, cuando ambas, calidad y cantidad de la dieta y las reservas de la gestación son inadecuadas, entonces el desarrollo fetal se verá severamente dañado - (Resnick y col., 1982).

#### Desnutrición y Desarrollo del SNC.

La mayor parte de la información disponible sobre los efectos de la desnutrición en el desarrollo del SNC, es congruente con el concepto establecido por Dobbing y Sands, (1971). Estos autores sugirieron que el cerebro en su desarrollo era relativamente resistente a la acción de la desnutrición prenatal, pero altamente vulnerable a la misma durante el período de la lactancia o posnatal. Esta vulnerabilidad obedecía a que el crecimiento cerebral era más acelerado en esta etapa. Paralelamente se sugirió que también eran más lábiles a la desnutrición posnatal las estructuras de reciente aparición filogenética como son la neocorteza y el cerebelo (Leuba y Rabinowicz, -- 1978); particularmente en el ordenamiento de substratos (Cordeiro y col., 1976). De las diversas áreas de estas estructuras se supo que la corteza visual primaria, y las células granulares y de Purkinje en el cerebelo, eran las más afectadas (Barnes y Altman, 1973a). Sin embargo, en años recientes los estudios de Resnick y col., (1979, 1982), Morgane y col., (1978), West y --

Kemper, (1976) y los nuestros, usando desnutrición pre y posnatal con dietas isocalóricas, han mostrado que existen cambios irreversibles en el SNC de ratas sometidas a desnutrición prenatal. La pregunta que surge, es si esta desnutrición interfiere igualmente en el crecimiento de las estructuras cerebrales que maduran durante ambos periodos pre y posnatal como son el hipocampo, el bulbo olfatorio y el cerebelo. Asimismo si deja efectos a largo plazo en estructuras de maduración posnatal temprana como la neocorteza y el cerebelo.

En relación a estas interrogantes, pudiera ser de gran ayuda la comparación entre las distintas etapas del desarrollo cerebral del hombre y de la rata. De acuerdo con Dobbing y -- Sands (1971), la desnutrición prenatal de la rata, es comparable con la desnutrición durante los dos primeros trimestres de gestación en el hombre. La desnutrición durante la lactancia en la rata, es comparable con la desnutrición al final del último trimestre de gestación y los dos primeros años de vida en el hombre. Entonces, si es posible esta extrapolación, la deficiencia especialmente de protefna, durante el primero y segundo trimestres en la gestación en el hombre, pudiera seriamente dañar el desarrollo cerebral posnatal. Por lo tanto es de pensarse que los efectos nocivos provocados por la desnutrición prenatal en el hombre, pudieran prevenirse a través de un adecuado aporte de protefnas durante el periodo de gestación. Normalmente se acepta que el desarrollo neuronal del SNC, tiene una fase de rápido crecimiento o de "ímpetu" de crecimiento

que en la rata ocurre posnatalmente. A éste período se le llama "período crítico" por Dobbing y col., (1971). Se acepta también que la deficiencia alimentaria en este período, puede dañar permanentemente el proceso de crecimiento del cerebro, lo cual ha sido objeto de numerosos estudios (Altman y McCrady, 1972; Salas y col., 1974; Bass y col., 1970; Gambetti y col., - 1974; Morgane y col., 1978; Bedi y col., 1980a y b; Resnick y col., 1979 y 1982; Salas, 1980). De los resultados de estas investigaciones resalta el hecho de que el efecto de la desnutrición, está determinado por la severidad y la duración de ésta durante el proceso de maduración del SNC. Así la desnutrición posnatal perturba notablemente el desarrollo y la maduración neuronal, interfiriendo con el crecimiento dendrítico de las células piramidales corticales y con el desarrollo de procesos espinosos dendríticos necesarios para el crecimiento de nuevas sinapsis (Angulo-Colmenares y col., 1979; Cragg, 1979; Cordero y col., 1976; Salas y col., 1974; West y Kemper, 1976; Salas, 1980; Davis y Katz, 1983, Shönheit, 1980, 1982; McConnell, y Berry 1978).

### Efectos de la Desnutrición

#### Posnatal en el Desarrollo

##### Neuronal Cortical.

De los tres hallazgos más consistentes acerca del desarrollo de la corteza visual de la rata desnutrida, sólo el desarrollo de las células piramidales ha sido ampliamente estudiado.

Los otros dos hallazgos relativos a la neurogénesis de las células corticales y del desarrollo posnatal de las células no piramidales permanecen aún bajo estudio experimental. Usando desnutrición posnatal Shönheit (1980), comparó los tres tipos celulares de la corteza visual (células piramidales de la V - capa cortical con las células piramidales de las capas profundas) y encontró que existe una clara heterocronía en la maduración celular. Así los cambios más leves ocurren en las neuronas de proyección que maduran más tempranamente y en forma acelerada (pirámides de la V capa). A continuación le siguen las pirámides de la capa III, que maduran en fase posnatal temprana o posnatal tardía. Finalmente, las no piramidales que maduran tardíamente y de manera prolongada durante la fase posnatal tardía. La desnutrición postnatal parece tener un efecto determinado sobre el factor modulador de crecimiento celular, en cada uno de los tres tipos celulares no piramidales estudiados. Posiblemente esto se debe a que el contenido de las proteínas influye directamente sobre el metabolismo de las células nerviosas, y por ende en la matriz dendrítica de la cual ocurre el crecimiento de las dendritas y espinas. En el presente estudio, hubo claras diferencias en cuanto a las ramas y espinas dendríticas, que en los animales desnutridos con 8% de caseína se incrementaron, particularmente en las células multipolares espinosas espaciadas y en las multipolares espinosas a las edades de 30 y 90 días. Por el contrario en los animales desnutridos con 6% - ocurrieron reducciones importantes en los tres tipos celulares

y en las tres edades siendo estos cambios más relevantes a la edad de 220 días.

Por otra parte, se sabe que la desnutrición temprana disminuye la división celular, la maduración y migración de los procesos gliales interrumpiendo el proceso de mielinogénesis (Bass y col., 1970; Cragg, 1972; Krigman y Hogan, 1976; Wiggins y Fuller, 1979). Asimismo, la maduración retardada de los sistemas aferentes específicos que llegan a la corteza, influyen en la diferenciación y en la maduración de las estructuras posinápticas por la ausencia de una influencia inductora (Gambetti y col., 1980; Warren y Bedi, 1982). Sin embargo, no solamente por la desnutrición se tiene este efecto sino también por la privación sensorial visual como lo mostraron los estudios de Rufz-Marcos y Valverde (1969); Valverde (1967); Callison y Spencer (1968); Parnavelas y Globus (1976); Rufz-Marcos (1984). Por otra parte es un hecho bien establecido que la estimulación ambiental provoca el efecto contrario sobre el crecimiento del SNC (Globus y Scheibel, 1967a; Greenough y Volkmar, 1973; Parnavelas y Globus, 1976a; Rutledge y col., 1974; Uylings y col. Los animales desnutridos parece que alargan su período hasta los 35 días y persisten los efectos hasta los 60 días. Este hecho fué observado en nuestros hallazgos pero hasta los 220 días, en cuanto a la densidad de las espinas de las células multipolares espinosas. Además se encontró un desfase de las curvas del crecimiento dendrítico (número de ramas, de la extensión dendrítica lineal y número de espinas), a los 30 días en --

los animales desnutridos con 8% de caseína (Tabla 1). Estos mismos animales, presentaron desfasamiento en sus curvas de crecimiento del número de dendritas y de espinas a los 90 -- días y solo del número de espinas a los 220 días de edad. Los animales desnutridos con 6% mostraron desfasamientos a los 30 y a los 220 días de edad, en los parámetros de la extensión dendrítica y en el número de espinas.

### Efectos de la Desnutrición

#### Posnatal y la Rehabilitación

#### Nutricional en el SNC.

Por otra parte en animales desnutridos desde el nacimiento hasta el destete y rehabilitados nutricionalmente, se ha encontrado que entre los 40 a 70 días hay una relativa restitución del tamaño cerebral comparado al control. Sin embargo, Winick y Noble (1966), mostraron una reducción permanente del DNA en los animales desnutridos durante la lactancia y posteriormente rehabilitados nutricionalmente. Bass y col., (1970), desnutriendo ratas durante la lactancia y luego permaneciendo -- éstas con la madre hasta el día 25 posnatal, se encontró que -- sus pesos corporales se recuperaron en un 93% a los 75 días de edad. Estos autores mostraron que el grosor de la corteza somatosensorial era similar a los controles a los 30 días de edad, el DNA, se mantuvo reducido hasta el día 50 coincidiendo con -- una elevación de las células indiferenciadas en la superficie ventricular. Estudios similares de la corteza occipital, mos-

traron los mismos efectos. Así pudiera ser posible que ocurriera una respuesta adaptativa estructural en el caso de la rehabilitación nutricional ocurrida durante el final del "período crítico". Varios autores (Angulo-Colmenares y col., - 1979; Bedi y col., 1980; Dyson y Jones 1976; Smart y Bedi -- 1982), sugirieron que durante el crecimiento existe una aproximación del número de sinápsis hacia los valores del animal control, pero destacan la presencia de sinapsis inmaduras. Asimismo, prevalece la pregunta de hasta que punto la rehabilitación parcial estructural se asocia a un restablecimiento funcional. En este particular, es evidente que no todas las células corticales y sus organelos responden de igual manera a la desnutrición. En este trabajo al comparar los patrones de crecimiento dendrítico entre controles y desnutridos, observamos cambios ocurridos por la edad. Por ejemplo en las células multipolares y biramificadas espinosas espaciadas entre 30, 90 y 220 días, se observó una tendencia a incrementar sus patrones de desarrollo dendrítico, aunque en los desnutridos, sus valores se encontraron por debajo de los controles.

Por otra parte la pregunta de si la rehabilitación parcial estructural se asocia a un restablecimiento funcional, adquiere relevancia sobre la base de una posible correlación entre estas investigaciones morfológicas con estudios acerca del comportamiento. Hasta el presente momento solo se puede señalar que la desnutrición prenatal interfiere con el desarrollo del SNC, alterando el proceso de neurogénesis, siendo este afec

to irreversible (Altman y McCrady, 1972; Bass y col., 1970; - Winick y Noble, 1966; Galler 1981; Zamenhof y Marthens 1984).

### Efectos de la Desnutrición

#### Sobre las Aminas Biogénicas.

Alteraciones en el metabolismo de los neurotransmisores como los descritos por Morgane y col., (1978); Hernández (1979), Resnick y col., 1982), de elevación del contenido de serotonina cerebral, podrían corresponder a un posible mecanismo de adaptación en el que la población neuronal incrementaría la liberación del neurotransmisor. Sin embargo, en éste estudio encontramos un aumento en el número de espinas dendríticas en los animales desnutridos con 8%, y un decremento de éstas - en los animales desnutridos con 6% de caseína. Si se intentara una correlación con los estudios anteriores, en el primer caso los animales alimentados con 8% de caseína, tendrían poblaciones neuronales con un incremento de conexiones aferentes que determinarían el incremento en el contenido de neurotransmisor. En el segundo caso, estarían en la situación contraria, explicándose solo el incremento de serotonina por el aumento de la actividad de las sinapsis. En ambos casos la desnutrición provocaría una adaptación paralela, al grado de la misma. El aumento de las aminas biogénicas descrito por los mismos autores en el cerebro de la rata, especialmente de serotonina (5H-T) y de su precursor, el triptófano podría explicarse sobre la base de un intento del organismo por adaptarse a la condición de --

desnutrición y mantener la funcionalidad cerebral. El elevado contenido de la serotonina parecería ser a costa de las -- proteínas de tejidos periféricos. Si el triptófano se encuentra libre en el plasma y dado que es necesario en la síntesis de proteínas periféricas, entonces su presencia implicaría -- una toma de éste material de los tejidos periféricos con la -- consiguiente reducción al 50-70% en el peso corporal de los -- animales desnutridos . También de alguna manera explicaría -- la poca reducción del peso cerebral (10% a un 15%). La des-- proporción entre el peso corporal y el peso cerebral pondría de manifiesto una relativa macrocefalia, siendo ésta máxima -- en los animales desnutridos entre los 20 y los 30 días posna-- tales (Forbes y col., 1977). Por otra parte, también explicaría como es que las madres desnutridas, producen menor cantidad de leche conduciendo a la desnutrición de las crías (Shoemaker y Wurtman, 1971).

Las monoaminas son uno de los sistemas de neuro-- transmisión que se desarrollan primero en el cerebro de los -- mamíferos. Parte de este sistema lo constituyen las células serotoninérgicas, a las que recientemente, se les ha involucrado en la inducción de efectos tróficos en el desarrollo cerebral. Lauder y col., (1982), mostraron que durante las etapas embrionarias de las células serotoninérgicas, éstas pueden actuar como "inductores, de diferenciación neuronal" en células blanco. Por ejemplo, en estudios posnatales con métodos

inmunocitoquímicos autoradiográficos, se ha mostrado una interacción de los axones de 5H-T con glioblastos en el desarrollo del cerebelo y células inmaduras granulares del hipocampo. Estos hallazgos hacen suponer, la posible influencia de las neuronas serotoninérgicas sobre el desarrollo de las células poco diferenciadas con las que establecen sus contactos. Por otra parte el efecto de los factores neurotróficos también se han estudiado en otras capas de la corteza visual de la rata. Por ejemplo, los estudios de Levitt y Moore (1978), y de Felten y col., (1982), en los que la separación unilateral del NLC, reduce el contenido de fibras noradrenérgicas ipsilaterales corticales. Este efecto visto de otra manera pudiera compararse con el efecto de la desnutrición sobre el NLC, que de algún modo influiría sobre la producción de noradrenalina. En el estudio de Shönheit (1982), la desnutrición prenatal en las células no piramidales de la corteza del cíngulo en la rata, muestra marcadas alteraciones en comparación con las células piramidales de la V capa cortical. Los datos obtenidos en el presente trabajo, confirman que los cambios ocurridos en las células no piramidales corticales de la IV capa son diferentes para cada tipo celular estudiado. Asimismo, difieren de los cambios ocurridos en las células piramidales de esta misma área, lo que podría sugerir que se encuentran influidos por un factor neurotrófico temprano que actúa sobre la capa V contribuyendo al crecimiento neuronal. Una posible explicación a las alteraciones ocurridas en las células no piramida

midales de esta misma capa, podría ser la posible interferencia de la desnutrición con la acción de este posible factor - neurotrófico.

Características Anatómicas  
e Interacciones de las  
Células no Piramidales  
de la IV Capa Cortical.

En el presente estudio se intentó localizar a las neuronas no piramidales de la capa IV cortical, debido a que en gran parte a ella proyectan las fibras del núcleo geniculado lateral. Fisiológicamente, la vía visual se considera como un canal sensorial que es esencial para la formación de imágenes y localización de los objetos en la escena visual. - Por otro lado se sabe que la serotonina proveniente del NRD - proyecta a esta capa de la neocorteza (Morrison y Magistretti, 1983; Takeuchi y Sano, 1983), particularmente a las células - no piramidales, siendo estas las vías más abundantes de la ca pa IV. En nuestros resultados, éstas células presentaron cam bios importantes en la densidad de las espinas dendríticas, - con respecto al factor edad en los animales normales y desnutridos con 8% y 6% de caseína. Estos últimos, frecuentemente, presentaron patrones de desarrollo de espinas diferentes a -- los controles, cuando se compararon las edades de 30 vs 90 y de 90 vs 220 días. Sin embargo, los cuatro tipos celulares -

estudiados revelaron una reducción en la densidad de las espinas dendríticas por la desnutrición a los 220 días de edad. - Asimismo, las células multipolares espinosas, son las que reciben el mayor número de proyecciones genículo-corticales, ya que la presencia de espinas les confiere mayor superficie de contacto (Lund, 1973). Además fueron las únicas que presentaron una reducción en el tamaño del soma a los 90 días de edad, en los animales desnutridos con 8% y 6% de caseína. Por lo - tanto éstas alteraciones anatómicas, pudieran correlacionarse con alteraciones funcionales del tipo de la percepción visual o de las respuestas visuomotoras que pudieran ser secuelas de la desnutrición.

## CONCLUSIONES

10. La desnutrición pre y posnatal en la rata, mediante dietas isocalóricas e hipoproteínicas conteniendo 8% y 6% de caseína, provocó una reducción en el peso corporal y cerebral a los 30, 90 y 220 días de edad.
20. La desnutrición con 8% de caseína, se acompañó de un incremento en el número de las dendritas, en la máxima extensión lineal y el número de espinas de las células no piramidales de la IV capa del área 17 de la rata. Particularmente, el número de ramas, se encontró aumentado en las células multipolares espinosas.
30. Los animales desnutridos con una dieta de 6% de caseína, mostraron una tendencia a disminuir el número de dendritas, la extensión y el diámetro dendrítico así como el número de espinas, particularmente a la edad de 220 días.
40. Con relación a la edad en los animales control, se observó un crecimiento progresivo en el número de ramas, la extensión dendrítica y el número de espinas, el cual fue más evidente en las células multipolares.
50. Los cambios en los porcentajes obtenidos debidos a la edad en los animales desnutridos, son mayores tanto en el sentido de aumentar o disminuir. Así, las células multipolares y las biramificadas, presentaron el mayor número de éstos en comparación a los otros tipos.

60. En relación a la edad, el número de espinas dendríticas reveló grandes modificaciones en los valores obtenidos, en las células multipolares -- (presumiblemente gabaérgicas) en los animales control, y en las bipolares (células peptidérgicas) en los animales desnutridos con las dietas de 8% y 6% de caseína.
70. Con la dieta de 8% de caseína, las células multipolares espinosas de la IV capa cortical, mostraron incrementos significativos de las ramas dendríticas a los 30 días y decrementos a los 90 y 220 días.
80. En las células multipolares espinosas, el número de espinas dendríticas entre 30 y 90 días, en general, se redujo, siendo seguido este cambio de pequeños incrementos entre los 90 y 220 días. El mayor número de cambios ocurrió en los animales desnutridos con 6% de caseína.
90. Los cambios morfométricos, observados en las dendritas y sus espinas en los cuatro tipos celulares estudiados, y en las tres edades, ponen de manifiesto la gran plasticidad del área 17 para responder a los estímulos ambientales tales como la desnutrición.
100. La gran variedad de alteraciones provocadas por la desnutrición, sobre las células no piramidales del área visual de la rata, revela que éstos efectos son selectivos y específicos para cada tipo. Siendo más variados que los cambios ocurridos en las células piramidales de la misma área, debido quizás a las alteraciones de las aminas biogénicas, -

para las cuales estas células no piramidales son específicas.

11o. Las alteraciones morfológicas aquí presentadas, podrían ser producidas no solo por la restricción de las proteínas de la dieta, sino también posiblemente, por la interacción con otras variables ambientales, del tipo de los trastornos hormonales y la privación sensorial, cuya participación requerirá de mayor trabajo experimental.

12o. Finalmente, los cambios morfológicos aquí observados, son congruentes con la idea general de que la desnutrición perinatal interfiere grandemente con los procesos de migración y desarrollo de las neuronas no piramidales. Asimismo, pudieran sugerir - que dadas estas alteraciones los fenómenos de percepción, actividad visuomotora, y otras actividades plásticas integradas a nivel del área visual, pudieran verse alteradas como resultado de la desnutrición severa.

## REFERENCIAS

- Altman, J. y McCrady, B. The influence of nutrition on neural and behavioral development. IV. Effects of infantile undernutrition on the growth of the cerebellum. Develop. Psychobiol. 5: 111-122 (1972).
- Angulo-Colmenares, A.G. Vaughan, D.W. y Hinds, J.W. Rehabilitation following early malnutrition in the rat. Body weight, brain size and cerebral cortex development. Brain Res. 169: 121-138 (1979).
- Barnes, D. y Altman, J. Effects of different schedules of early undernutrition on the preweaning -- growth of the rat cerebellum. Exp. Neurol. 38: 406-419 (1973a).
- Barnes, D. y Altman, J. Effects of two levels of gestational-lactational undernutrition of the postweaning growth of the rat cerebellum. Exp. Neurol. 38: 420-428 (1973b).
- Bass, N.H. Netsky, M.G. y Young E. Effect of neonatal malnutrition on developing cerebrum. I. Microchemical and histologic study of cellular differentiation in the rat. Arch. Neurol. 23: 289-302 (1970).
- Batuev, A.S. y Damianenko, G.P. Stellate cells differentiate successively in the cat sensorimotor cortex during early postnatal ontogeny. Neurosci. Lett. 38: 11-15 (1983).
- Bedi, K.S., Hall, R., Davies, C.A. y Dobbing, J.A. Stereological analysis of the cerebellar granule and Purkinje cells of 30-days-old adult rats undernourished during early postnatal life. J. Comp. Neurol. 193: 863-870 (1980a).
- Bedi, K.S., Thomas, Y.M., Davies, C.A. y Dobbing, J. Synapse-to-neuron ratios of the frontal and cerebellar cortex of 30-day-old and adult rats undernourished during early postnatal life. J. Comp. Neurol. 193: 49-56 (1980b).
- Bok, S.T. 1956. Quantitative relations between perikaryon and nucleus. En: Histonomy of the cerebral cortex. Elsevier, Amsterdam Eds. pp. 60-98.

- Cajal, S.R. 1911. Histologie du Système Nerveux de l'homme et des vertébrés. Vol. 11, 2a. Imp. C.S.I.C. Madrid (1952) pp 519-646.
- Callison, A.D. y Spencer, J.W. Effect of chronic undernutrition and/or visual deprivation upon the visual evoked potential from the developing rat brain. Develop. Psychobiol. 1: 196-204 (1968).
- Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Kemper, T. y Morgane, P.J. Nucleus Locus coeruleus: a morphometric Golgi study in the rats of three age groups. Brain Res 247: 17-28 (1982).
- Clark, M.G. Zamenhof, S., Van Marthens, E. Granel, L. y Kruger, L. The effect of prenatal malnutrition on dimensions of cerebral cortex. Brain Res. 54: 387-402 (1973).
- Cordero, M. A. Díaz, G. y Araya, J. Neocortex development during severe malnutrition in the rat. Am. J. Clin. Nutr. 29: 358-365 (1976).
- Cragg, B.G. The development of cortical synapses during starvation in the rat. Brain 95: 143-150 (1972).
- Davies, A.C. y Katz, H.B. The comparative effects of early life undernutrition and subsequent differential environments on the dendritic branching of pyramidal cells in rat visual cortex. J. Comp. Neurol. 218: 345-350 (1983).
- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P.J. Nucleus raphe dorsalis: a morphometric Golgi study in rats of three age groups. Brain Res. 207: 1-16 (1981a).
- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane P.J. The effect of protein deprivation on the nucleus raphe dorsalis: a morphometric Golgi study in rats of three age groups. Brain Research, 221: 243-255 (1981b).
- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane P.J. The effects of protein deprivation on the nucleus locus coeruleus: a morphometric Golgi study in rats of three age groups. Brain Res. 304: 243-253 (1984).

Dobbing, J., Hopewell, J.W. y Lynch, A. Vulnerability of developing brain VII. Permanent deficit of neurons in cerebral and cerebellar cortex following early mild undernutrition. Exp. Neurol. 32: 439-447 (1971).

Dobbing, J. y Sands, J. Vulnerability of developing brain IX. The effects of nutritional growth retardation on the timing of the brain growth-spurt. Biol. Neonate 19: 363-378 (1971).

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

Eayrs, J.T. y Goodhead, B. Postnatal development of the cerebral cortex in the rat. J. Anat. 93:385-401 (1959).

Feldman, M.L., y Peters, A. The forms of non-pyramidal neurons in the visual cortex of the rat. J. Comp. Neurol. 179: 761-794 (1978).

Felten, D.L., Hallman, H. y Jonsson, G. Evidence for a neurotrophic role of noradrenaline neurons in the postnatal development of the rat cerebral cortex. J. Neurocytol. 11: 119-135 (1982).

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

Forbes, W.B., Tracy, C., Resnick, O. y Morgane, P.J. Effects of maternal dietary protein restriction on growth of the brain and body in the rat. Brain Res. Bull. 2: 131-135 (1977).

Galler, J.R. Visual discrimination in rats: The effects of rehabilitation following intergenerational malnutrition. Develop. Psychobiol. 14: 229-236 (1981).

Gambetti, P., Gambetti, A., Rizutto, N. Shafer, B. y Pfaff, L. Synapses and malnutrition: quantitative ultrastructural study of rat cerebral cortex. Exp. Neurol. 43: 464-473 (1974).

- Globus, A. y Scheibel, A.B. Pattern and field in cortical structure: The rabbit. J. Comp. Neurol. 131: 155-172 (1967a).
- Globus, A. y Scheibel, A.B. The effect of visual deprivation in cortical neurons: a Golgi study. Exp. Neurol 19: 331-345 (1967b)
- Greenough, W.T. y Volkmar, F.R. Pattern of dendritic branching in occipital cortex of rats reared in complex environments. Exp. Neurol. 40: 491-504. (1973).
- Hernández, R.J.  $\text{Na}^+$  -  $\text{K}^+$  - ATPase activity in the brain cortex of rats ontogenetically malnourished, and treated with serotonin precursors. Brain Research, 162: 348-350 (1979).
- Jones, E.G. Varieties and distribution of non-pyramidal cells in the somatic sensory cortex of the Squirrel Monkey J. Comp. Neurol. 160: 205-268 (1975).
- Krieg, W.J.S. Connections of the cerebral cortex I. The albino rat. A. Topography of the cortical areas. J. Comp. Neurol. 84: 221-275 (1946).
- Krigman, M.R. y Hogan, E.L. Undernutrition in the developing rat: Effect upon myelination. Brain Res. 107: 239-255 (1976).
- Lauder, J.M., Wallace, J.A. Kuler, H., Petrusz, P. y McCarty K. In vivo and In vitro development of serotonergic neurons. Brain Research Bull., 9: 605-625, (1982).
- Leuba, G. Heumann, D. y Rabinowicz, Th. Postnatal development of the mouse cerebral neocortex, III. Some dynamical aspects. J. Hirnforsch, 19: 301-312 (1978).
- Leuba, G. y Rabinowicz, Th. Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex. I. Cellular densities, cortical volume and total number of cells. Exp. Brain Res. 37: 283-298 (1979a).
- Leuba, G. y Rabinowicz Th. Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex, II. Evolution of dendritic branching and spines in the visual region. Exp. Brain Res. 37: 299-308 (1979b).

Levitt, P. y Moore R.Y. Noradrenaline neuron innervation of the neocortex in the rat. Brain Res. 139: 219-231. (1978).

Lorente de Nó, R. Cerebral cortex, architecture, intracortical connections motor projections. En: Physiology of the Nervous System. J. Fulton. Ed. Oxford Univ. Press, pp. 288-330 (1949).

Lund, J.S. Organization of neurons in the visual -- cortex, area 17, of the monkey (Macaca mulatta). J. Comp. Neurol. 147: 455-496 (1973).

Marín-Padilla, M., Szibitz, G.R., Almy, C.P. y Brown, H.N. Spine distribution of the layer V pyramidal cells in man: a cortical model. Brain Res. 12: 493-496 (1969).

McConnell, P. y Berry, M. Effects of undernutrition on Purkinje cell dendritic growth in the rat. J. Comp. Neurol. 177: 159-172 (1978).

McMullen, N. Glaser, E.M. y Tagament, M. Morphometry of spine-free nonpyramidal neurons in rabbit auditory cortex. J. Comp. Neurol. 222: 383-395. (1984).

Miller, M. Maturation of rat visual cortex. I. quantitative study of Golgi-impregnated pyramidal neurons. J. Neurocytol. 10: 859-878 (1981).

Miller, M. y Peters, A. Maturation of rat visual cortex II. A combined Golgi electron microscope study of pyramidal neurons. J. Comp. Neurol. 203: 555-573 (1981).

Miller, S.A. Nutrition in the neonatal development of protein metabolism. Federation Proceedings 29: 1407-1412 (1970).

Mitra, N.L. Quantitative analysis of cells types in mammalian neocortex. J. Anat. 89: 467-483 (1955).

Morest, D.K. The growth of dendrites in the mammalian brain Z. Anat. Entwickl. Gesch. 128: 290-317 (1969).

Morgane, P.J. Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, J., Hawrylewicz, E. y Resnick, O. The effect of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. Neurosci. Biobehav. Rev. 2: 137-230, (1978).

- Morrison, J.H. y Magistretti, P.J. Monoamines and peptides in cerebral cortex. Contrasting principles of cortical organization. Trends in Neurosciences 6: 146-151 (1983).
- Noback, Ch. R. y Eisenman, L.M. Some effects of protein calorie undernutrition on the developing central nervous system of the rat. Anat. Rec. 201: 67-73 (1981).
- Parnavelas, J.G. Burne, R.A. y Lin, C.S. Distribution and morphology of functionally identified neurons in the visual cortex of the rat. Brain Res. 261: 21-29 (1983).
- Parnavelas, J.G. y Globus, A. The effect of continuous illumination on the development of cortical neurons in the rat: a Golgi study. Exp. Neurol. 51: 637-647 (1976).
- Parnavelas, J.G., Lieberman, A.R. y Webster, K.E. Organization of neurons in the visual cortex, area 17, of the rat. J. Anat. 124: 305-322 (1977).
- Parnavelas, J.G., y Uylings H.B.M. The growth of non-pyramidal neurons in visual cortex of the rat: A morphometric study. Brain Res. 193: 373-382 (1980).
- Paxinos, G., y Watson, Ch. The rat brain in stereotaxic coordinates, Academic Press Sydney (1982).
- Peters, A. Neuronal organization in rat visual cortex. En: Progress in Anatomy Vol. I. Ed. by R.J. Harrison and R.L. Holmes Cambridge Univ. Press. pp. 95-121 (1981).
- Peters, A. Stellate cells of the rat parietal cortex. J. Comp. Neurol. 141: 345-374 (1971).
- Peters, A. y Kaiserman-Abramof, I.R. The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex. The perikaryon, dendrites and spines. Am. J. Anat. 127: 321-356 (1970).
- Peters, A. y Regidor, J.A. reassessment of the forms of non-pyramidal neurons in area 17 of cat visual cortex. J. Comp. Neurol. 203: 685-716 (1981).

- Resnick, O., Miller, M., Forbes, W., Hall, R., Keaper T., Bronzino, J. y Morgane P.J. Developmental protein malnutrition influences on the central nervous system of the rat. Neurosci. Biobehav. Rev. 3: 233-246 (1979).
- Resnick, O., Morgane, P.J. Hasson, R. y Miller; M. Overt and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. Neurosc. Biobehav. Rev. 6: 55-75 (1982).
- Rufz-Marcos, A. Modelos matemáticos en Biología. Investigación y Ciencia, No. 93: 99-108 (1984).
- Rufz-Marcos, A. y Valverde, E. The temporal evolution of the distribution of dendritic spines in the visual cortex of normal and dark raised mice. Exp. Brain Res. 8: 284-294 (1969).
- Rutledge, L.T. Wright, C. y Duncan, J. Morphological changes in pyramidal cells of mammalian neocortex associated with increased use. Exp. Neurol 44; 209-223 (1974).
- Salas, M. Effects of early undernutrition on dendritic spines of cortical pyramidal cells in the rat. Dev. Neurosci. 3: 109-117 (1980).
- Salas, M., Díaz, S. y Nieto, A. Effects of neonatal food deprivation on cortical and dendritic development of the rat. Brain Res. 73: 139-144 (1974).
- Schapiro, S. y Vukovich, K.R. Early experience effects upon cortical dendrites: A proposed model for development. Science, 167: 292-294 (1970).
- Shönheit, B. The development of neurons in the cingulate cortex in postnatally undernourished rats. Folia Morphologica 4: 337-340 (1980).
- Shönheit, B. Über den einfluss einer frühen postnatalen mangelernährung auf die reifung kortikaler neurone bei der ratte. J. Hirnforsch. 23: 681-692 (1982).
- Sholl, D.A. Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat. J. Anat. 87: 387-407 (1953).
- Shoemaker, W.J. y Wurtman, R.J. Perinatal undernutrition: accumulation of catecholamines in rat brain. Science 171: 1017-1019 (1971).

Siassi, F. y Siassi S. Differential effects of protein calorie restriction and subsequent repletion on neural and nonneural components of cerebral cortex in newborn rats. J. Nutr. 103: 1625-1633 (1973).

Somogyi, P. Freund, T.F. Wu J.Y. Smith D.A. The section Golgi impregnation procedure 2. Immunocytochemical demonstration of glutamate decarboxylase in Golgi impregnated neurons and their afferent synaptic boutons in the visual cortex of the cat. Neuroscience 3: 475-490 (1983).

Smart, J.L. Bedi, K.S. Early life undernutrition in rats. 3. Motor performance in adulthood. Br. J. Nutr. 47: 439-444 (1982).

Sugita, M. Comparative studies on the growth of the cerebral cortex. VII on the influence of starvation at an early age upon the development of the cerebral cortex. Albino rat. J. Comp. Neurol. 29: 177-240 (1918).

Takeuchi, Y. y Sano, Y. Immunohistochemical demonstration of serotonin nerve fibers in the neocortex of the monkey (Macaca fuscota). Anat. Embriol. 166: 155-168 (1983).

Thomas, Y.M., Peeling, A., Bedi, K.S., Davies, C.A. y Dobbins, J. Deficits in synapse-to-neuron ratio due to early undernutrition show evidence of catch-up in later life. Experientia 36: 556-557 (1980).

Uylings, H.B.M. Kuypers, K., Diamond, M.C. y Veltman, W.A.M. Effects of differential environments on plasticity of dendrites of cortical pyramidal neurons in adult rat Exp. Neurol. 62: 658-677 (1978).

Valverde, F. Apical dendritic spines of the visual cortex and light deprivation in the mouse. Exp. Brain Res. 3: 337-352 (1967).

Warren, M.A. y Bedi, K.S. Synapse-neuron ratios in the visual cortex of adult rats undernourished from about birth until 100 days of age. J. Comp. Neurol. 210: 59-64 (1982).

West, C.D. y Kemper, T. The effects of a low protein diet on the anatomical development of the rat brain. Brain Res. 107: 221-237 (1976).

Wiggins, R.C. y Fuller, G.N. Relative synthesis of myelin in different brain regions of postnatally undernourished rats. Brain Res. 162: 103-110, (1979).

Winick, M. y Noble, A. Cellular response in the rats during malnutrition of various ages. J. Nutr. 89: 300-306 (1966).

Winick, M. Normal cellular growth of the brain malnutrition. En Malnutrition and brain development. Oxford Univ. Press, New York (1976).

Zamenhof, S., y Marthens, E. Litter size, maternal parameters and brain and body parameters of neonatal rats. Biol. Neonat. 45: 296-298 (1984).

Zecevic, N. y Rabic, L. Development of the rat neocortex potential role of monoaminergic input. Periodicum Biologorum 84: 297-304 (1982).