

43  
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DESARROLLO Y MADURACION DE LAS CELULAS  
GRANULARES DEL GIRO DENTADO DE LA  
RATA DESNUTRIDA

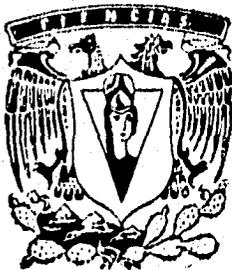
**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**B I O L O G O**

**P R E S E N T A :**

**MARIA DE LOS ANGELES ARACELI DIAZ RUIZ**



DIRECTOR DE TESIS: DRA. SOFIA YOLANDA DIAZ MIRANDA

MEXICO, D. F.

DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES



1995

FACULTAD DE CIENCIAS  
SECCION ESCOLAR

**FALLA DE ORIGEN**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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.



## **RECONOCIMIENTO**

**El presente trabajo, se llevó a cabo en parte en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Biomédicas y en el Centro de Neurobiología, UNAM.**

## **DEDICATORIA**

**A MI ESPOSO FRANCISCO POR SU AMOR Y APOYO QUE HA SIDO FUNDAMENTAL PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.**

**A MIS HIJOS FRANCISCO DANIEL, AMAIRANI Y A NUESTRO PROXIMO BEBE, QUE HAN SIDO UN ALICIENTE PARA CONTINUARA CON MI CARRERA.**

**A MIS PADRES REYNALDO Y MARIA DE LOS ANGELES POR SUS CONSEJOS Y APOYO.**

**A MIS HERMANOS REYNALDO, GABRIEL, JUAN CARLOS, PATRICIA Y MIGUEL ANGEL.**

**A LA FAMILIA OSORNIO POR EL GRAN APOYO QUE ME BRINDARON.**

**A LA FAMILIA RUIZ RUIZ.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Dra. Sofía Yolanda Díaz Miranda, por la ayuda y el apoyo que me brindo en todo momento que fue fundamental para realizar este trabajo, así como también al Dr. León Cintra McGlone.**

**A mis compañeros de laboratorio por el apoyo brindado.**

*Biol. Azucena Aguilar Vázquez.*

*Biol. Pilar Durán Hernández.*

*M. en C. Agustín Galván Rosas.*

*M. en C. Esther Perez Torrero.*

*Tec. Pedro Medina.*

**A los miembros del jurado por los valiosos comentarios al presente trabajo.**

*Dra. Mayra García Ruíz.*

*M.en C. Patricia Rivas Manzano.*

*M. en C. Leticia Parra Gámez.*

*M.en C. Leticia Granados Rojas.*

**A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico, por el apoyo económico para la realización del trabajo de investigación (DGAPA: IN 20494, IN 204093, IN 204892).**

# INDICE

## RESUMEN

### INTRODUCCIÓN

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| Ciclo Celular.....                 | 1  |
| Desarrollo Neuronal Del S N C..... | 1  |
| Formación Hipocámpica.....         | 4  |
| Origen Embrionario.....            | 6  |
| Aferencias y Eferencias.....       | 9  |
| Funciones del Hipocampo.....       | 11 |
| Periodos Críticos.....             | 12 |
| Desnutrición.....                  | 15 |
| Desnutrición e Hipocampo.....      | 17 |

|                       |           |
|-----------------------|-----------|
| <b>HIPÓTESIS.....</b> | <b>19</b> |
| Objetivo General..... | 19        |
| Objetivos.....        | 20        |

### MATERIAL Y MÉTODO

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| Animales.....                  | 20 |
| Condiciones Nutricionales..... | 20 |
| Diseño Experimental.....       | 21 |
| Cruzas.....                    | 23 |
| Técnica Histológica.....       | 23 |
| Análisis Morfométrico.....     | 28 |

### RESULTADOS

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| Peso Corporal.....             | 33 |
| Peso Cerebral.....             | 33 |
| 1. Mediciones del Soma.....    | 37 |
| 2. Parámetros Dendríticos..... | 41 |
| 3. Densidad de Espinas.....    | 41 |
| 4. Total de espinas.....       | 49 |

|                |    |
|----------------|----|
| DISCUSIÓN..... | 49 |
|----------------|----|

|                   |    |
|-------------------|----|
| CONCLUSIONES..... | 57 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 58 |

## RESUMEN

La nutrición deficiente durante la vida perinatal que coincide con el periodo crítico o de crecimiento neuronal rápido, produce alteraciones en el desarrollo del hipocampo que pueden ser irreversibles. Por esta razón, en el presente estudio se analizó la morfología de las células granulares del giro dentado del hipocampo, en ratas de 30 días de edad y el efecto de la desnutrición hipoproteínica durante los periodos prenatal y postnatal, así como la subsecuente rehabilitación nutricional postnatal. El estudio se llevó a cabo en las células granulares del giro dentado, debido a que son esenciales en la integración del circuito trisináptico hipocámpico, el cual se identifica como el sustrato funcional de los procesos de la memoria y el aprendizaje. Además, son un tipo especial de neuronas cuyo pico máximo de generación se lleva a cabo durante el periodo postnatal, parte del cual se prolonga hacia la vida adulta en la rata. Por estas razones, resultan ser un modelo adecuado para el estudio de los efectos de la desnutrición instalada en distintos periodos del desarrollo cerebral. Se utilizaron tres modelos experimentales de desnutrición: 1) crónica (pre y postnatal) con 8% de caseína; 2) Prenatal con 6% de caseína y rehabilitados postnatalmente con 25% de caseína; y 3) postnatal con 6% de caseína al momento del nacimiento, mismos que fueron comparados con animales normalmente nutridos con 25% de caseína. En los dos primeros se instaló la dieta hipoproteínica (del 8% o 6% de caseína) a una hembra durante 5 semanas antes del apareamiento, y luego, durante la gestación y la lactancia. Se realizó el análisis morfométrico en el tamaño del soma de las células granulares del giro dentado, así como en las densidades dendríticas y de espinas. Los resultados mostraron decrementos significativos en el tamaño celular de los grupos: desnutrido pre y postnatalmente con 8% de caseína (8/8) y, desnutrido prenatalmente con 6% de caseína (6/25), no así en el grupo desnutrido postnatalmente (25/6). Asimismo, se encontraron decrementos significativos en las ramas dendríticas en todos los paradigmas de desnutrición utilizados. Finalmente, la densidad de las espinas dendríticas se encontró disminuida significativamente en los grupos 8/8 y 6/25, sin embargo, el grupo 25/6 mostró incrementos significativos en este parámetro. Los resultados indican que la desnutrición postnatal causa mayores alteraciones morfológicas en las células granulares del giro dentado.

# INTRODUCCIÓN

## CICLO CELULAR

Durante el desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC), las células mitóticas proliferan en la zona germinal neuroepitelial, estas células pasan por distintas etapas o fases: de mitosis (M), de síntesis del DNA (S), premitótica (G2) y posmitótica, (G1), estas fases ocurren en lo que se ha denominado tiempo de generación (Fig. 1). Después de estas fases los neuroblastos se diferencian en la matriz celular durante la fase posmitótica y atraviesan la fase S, sin síntesis del DNA para migrar dentro de la capa del manto (Díaz-Cintra y Ortega 1991).

En el epitelio de la zona germinal las células se dividen activamente, una célula puede pasar varias veces por este ciclo celular y posteriormente pierde su capacidad de división y de esta manera abandonan la zona germinal para migrar y ocupar la posición final que tendrán dentro del SNC. Estas células serán las neuronas maduras futuras que ya no se dividirán durante el resto de la vida del individuo. Otra población de células derivadas de la misma zona germinal no perderá esta capacidad y dará lugar a las células neurogliales o macrogliales (Díaz-Cintra y Ortega 1991).

## DESARROLLO NEURONAL DEL SNC

El estudio de la ontogenia cerebral es de gran importancia para entender la secuencia de cambios anatómicos que ocurren a nivel de estructura y composición bioquímica en las diferentes etapas del desarrollo del cerebro, se ha descrito que estos cambios están determinados tanto por programas establecidos genéticamente, (condiciones intrínsecas) como por condiciones externas ambientales. Además, el desarrollo ontogénico sigue un patrón

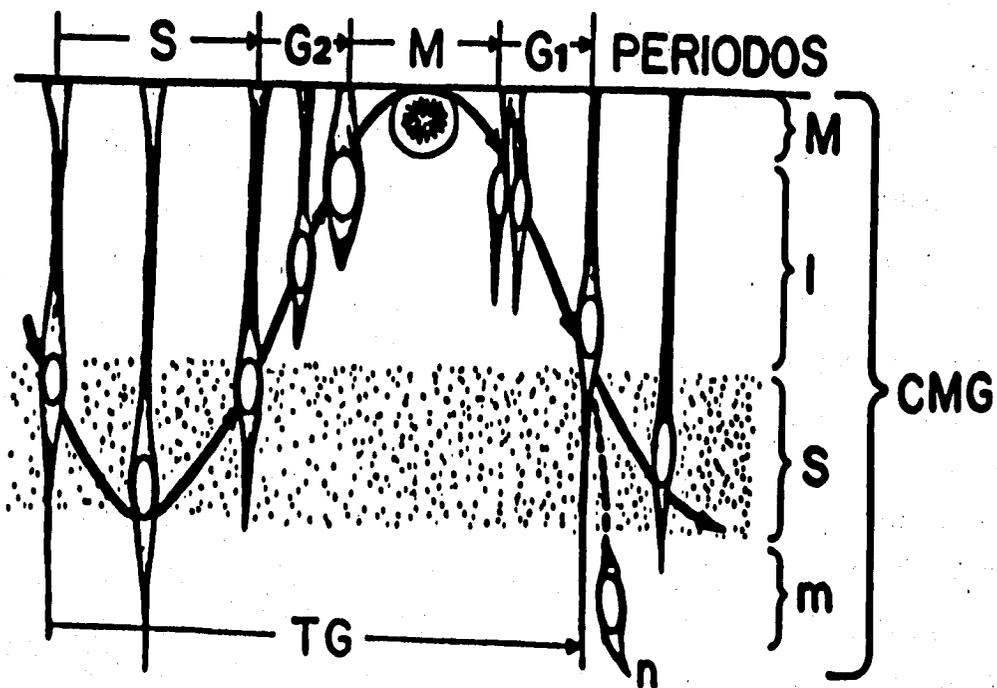


Fig 1 Esquema que muestra los diferentes eventos que ocurren durante el ciclo celular. Periodos ; Mitótico (M), premitótico, (G<sub>2</sub>), posmitótico (G<sub>1</sub>) y tiempo de generación (TG), capa de la matriz germinal (CMG). Zonas: de mitosis (M), intermedia (I), y de síntesis (S), capa del manto (m). El neuroblasto (n) atraviesa la zona S. (Díaz-Cintra y N.A. Ortega, 1991).

específico, que dá prioridad a las partes del SNC que en el momento del nacimiento son más importantes para la sobrevivencia del organismo (Salas, 1978).

El desarrollo neuronal se divide en tres etapas, una es temporal (histogénesis), otra espacial (regionalización del SNC) y una última de forma (morfogénesis). Además, este desarrollo también depende del proceso de diferenciación, el cual comprende tres estadios que son: La proliferación, migración y maduración de las células nerviosas. Durante la proliferación ocurre la generación de tipos específicos de neuronas (linaje celular). La migración de las neuronas es desde su lugar de origen hasta los sitios definidos en donde establecen conexiones específicas con otras neuronas, que en muchos de los estadios de migración neural las células son guiadas transitoriamente por un tipo de glia especial llamada glia radial. Seguida a la migración neuronal, desde el neuroepitelio, ocurre la de los espongioblastos para formar a la macroglia (astrocitos y oligodendrocitos). El tercer elemento glial, la microglia o mesoglia que es de origen mesodérmico, se origina de microglioblastos que migran al neuroepitelio una vez que el sistema nervioso ha sido invadido por el crecimiento de vasos sanguíneos. Finalmente, se lleva a cabo la maduración neuronal, que implica cuatro etapas; en la primera el crecimiento y alargamiento de los axones que depende de los factores de crecimiento nervioso (factores tróficos) o de factores intrínsecos celulares. La segunda se refiere al crecimiento de los axones por medio de prolongaciones citoplásmicas de membrana ondulante localizadas en los extremos de los axones llamados conos de crecimiento, estas formaciones fueron identificadas por Cajal desde 1911. La tercera etapa es el alargamiento o crecimiento de las dendritas, el cual está determinado por factores intrínsecos celulares. La forma final de la neurona, y la de sus sitios posinápticos (las espinas dendríticas),

dependerá de las interacciones locales con las terminales presinápticas. La cuarta etapa es la maduración neuronal específica que dependerá de la expresión de sus propiedades bioquímicas (Márquez-Orozco, 1991).

### **LA FORMACIÓN HIPOCAMPICA**

Está constituida por el arquioplio que corresponde a la corteza filogenéticamente más primitiva debe su nombre por la semejanza a un caballito de mar, teniendo una forma arqueada en forma de "C" al plegarse en torno a la cisura hipocámpica (Lopez-Antunez, 1986). En los roedores, esta estructura se encuentra inmersa en la corteza medio-basal del SNC ocupa la mayor parte de las paredes ventrolateral y posterior de la corteza cerebral y su volumen aproximado es de 6.5 mm. En los humanos se desplaza hacia la parte ventral del cerebro, debido al gran desarrollo del cuerpo caloso y del lóbulo temporal que ocupa aproximadamente el 20% de la corteza cerebral (Amaral y Witter, 1989).

El complejo hipocámpico está constituido por cuatro regiones que son: el área entorrinal, que en los roedores se divide en corteza media y lateral, el complejo subicular (presubiculo, subiculo y parasubiculo), el hipocampo propiamente dicho o *Asta de Ammon* constituido por 4 campos (CA1, CA2, CA3 y CA4) y el giro dentado o *Fascia dentada* (Amaral y Witter, 1989). Se identifican cuatro tipos celulares característicos: las células piramidales forman los campos CA1, CA2, CA3 y CA4, las granulares que se encuentran únicamente en el giro dentado, las células GABAérgicas localizadas a todo lo largo de la formación hipocámpica y las células musgosas o polimórficas en la región hilar del giro dentado (Amaral, 1978).

El giro dentado está constituido por tres regiones que son la suprapiramidal o labio dorsal, la región opuesta o infrapiramidal también

llamada labio ventral, y la región en donde se conectan ambas partes la cual se ha denominado cresta. Se identifican tres estratos bien definidos que lo constituyen y que son: el molecular o superficial que contiene las dendritas de las células granulares y que mide aproximadamente 300µm, el estrato granuloso o intermedio donde se encuentran los somas de las células granulares (1,000,000 aprox) y cuyo tamaño es de 25µm aprox. La región hilar profunda está formada por células polimórficas (musgosas), de las cuales se han reconocido dos tipos; multipolares y fusiformes (Amaral, 1978) y las células GABAérgicas, cuyos axones se dirigen al tercio interno de la capa molecular, también en esta capa se encuentran las fibras musgosas que son los axones de las células granulares y que Cajal (1911) las llamó así por las sinapsis gigantesca y complejas que forman con las células piramidales de CA3. El plexo musgoso se origina en las células granulares y está formado por axones no mielinizados cuyas terminales tienen altos contenidos de zinc (Frederickson y Danscher, 1990).

En el Asta de Ammon se pueden observar varias capas o *strata* bien definidas que son la *piramidal*, donde se encuentran localizados los somas de las células piramidales, el *oriens* este estrato está formado por las dendritas basales de las células piramidales, y por células GABAérgicas en canasta (células inhibitorias), el *stratum lacunosum-moleculare* donde se localizan las dendritas apicales y una región profunda llamada *stratum radiatum*, existe una región que únicamente se encuentra en el campo CA3 llamado *stratum lucidum*, localizado arriba de el cuerpo celular de las células piramidales, llamado también zona de excrecencias, es en este sitio donde llegan las fibras musgosas provenientes de el giro dentado (Amaral y Witter, 1989).

## ORIGEN EMBRIONARIO

Las células del hipocampo surgen de la capa subependimaria del tercer ventrículo y de los ventrículos laterales (Altman, 1986). El desarrollo ontogénico del complejo hipocámpico se da de forma heterocrónica (Fig. 2), es decir que ocurre en diferente tiempo, así, los grupos celulares cercanos a la fisura rinal se forman antes que los que se encuentran más alejados de ésta, por lo tanto primero se forman las células de la corteza entorrinal, posteriormente las del complejo subicular, después las células piramidales de los campos del *Cornus Ammonis* (CA) y finalmente las células granulares del giro dentado. Es oportuno mencionar que durante el desarrollo se manifiesta un periodo estacionario de migración de las células piramidales del campo CA3, las que no establecen conexión con las del CA1 hasta que no reciben las aferencias de las células granulares, otras poblaciones de células del para y presubiculo se forman después que las del subículo (Altman y Bayer, 1990).

Las células granulares de giro dentado empiezan a originarse a partir del día 14 embrionario (E14) (Schlessinger y Cowan, 1975), al momento del nacimiento existen sólo un 15% aproximadamente con respecto a las del animal adulto, el resto de las células granulares (85%), se originan durante el periodo postnatal (P), de este porcentaje, el 40% se genera durante la primera semana de vida y después del día P18 sólo se forman entre el 5% al 10%. El pico de proliferación máxima se lleva a cabo desde el momento del nacimiento hasta el día P15, observándose un incremento enorme entre los días P8 y P15 (Altman y Dass, 1965; Bayer y Altman, 1974). Las células GABAérgicas localizadas en la región hilar y en la capa molecular del giro dentado se generan en etapas prenatales entre los días E15 y E19, y aquellas localizadas en los *strata; oriens, radiatum y lacunosum-moleculare* de los diferentes campos se originan en etapas embrionarias en los días E15 al E17 (Altman y

Bayer, 1990). En la rata Sprague Dawley, Amaral y col. (1990), encontraron que la generación de células piramidales ocurre entre los días E14 al E19. Las células piramidales del campo CA1 se generan después de aquellas localizadas en el campo CA3, colocándose en su posición final antes que las del campo CA3. Se han realizado trabajos para poder determinar la localización final de las células granulares del giro dentado y las observaciones han revelado que existe una heterocronía muy marcada en las diferentes regiones que lo constituyen. Así, las células del labio dorsal del giro dentado se forman antes que las del labio ventral; aquellas de la región caudal (polo temporal) son generadas antes que las de la región rostral (polo septal). Pero en todas las regiones de la capa granular las neuronas más superficiales localizadas en el *estrato granuloso* se forman antes que las de las partes profundas, es decir las células granulares de origen primario se sitúan en posición superficial, mientras que las últimas células formadas se encuentran en la parte más profunda de la capa granular (Altman y Das, 1965; Bayer y Altman, 1974; Schlessinger y Cowan, 1975; Zimmer, 1978).

El subiculum debe su nombre a la forma de pedestal que tiene, está dividido en tres áreas que son, presubiculum, subiculum y parasubiculum separados del GD por la cisura hipocámpica. El tipo celular que caracteriza al complejo subicular son células piramidales semejantes a las de CA1. El subiculum se continua lateralmente con la corteza del área entorrinal. Las neuronas de esta corteza se caracterizan por su forma estrellada y únicamente las células de la parte media y lateral son las que mandan sus fibras al GD. Existen aproximadamente 220,000 células que mandan sus axones al GD, la generación de las células piramidales del para y presubiculo es de origen embrionario y se da en los días E16 al E19 y las de el subículo, entre los días

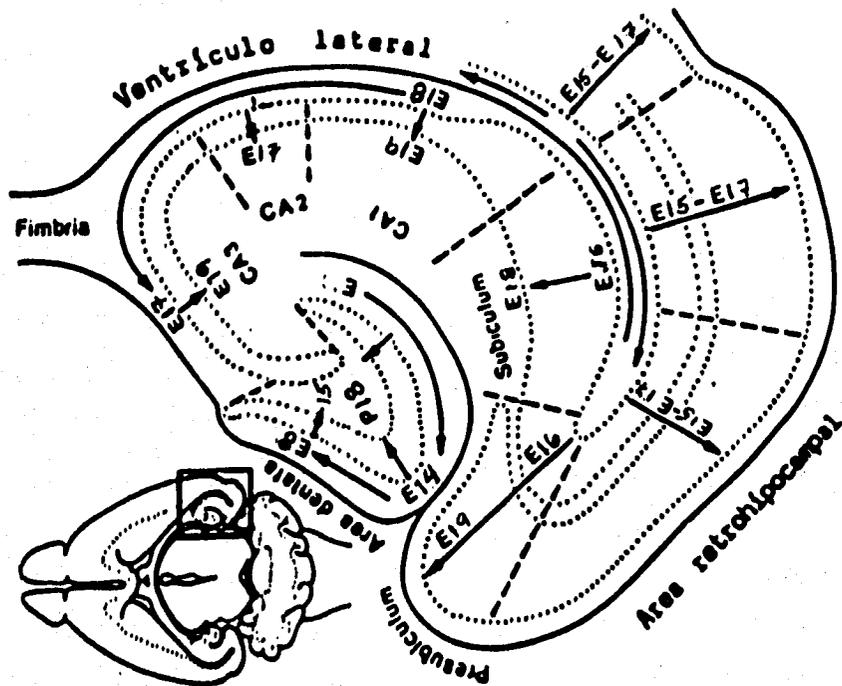


Fig. 2. Esquema donde se muestra las etapas de maduración y desarrollo del hipocampo y del giro dentado en la rata. Los gradientes de generación neuronal se indican con las flechas, tanto en el hipocampo como en el giro dentado, el subículo y el área entorrinal. Periodo embrionario (E) y periodo postnatal (P) (tiempos de generación observados por Altman y Das, 1965, Bayer y Altman 1974, Schlessinger y Cowan 1975, Altman y Bayer 1990). (Esquema modificado de Angevine, 1970.).

E16 a E18. La células de la corteza entorrinal se originan en etapas embrionarias entre los días E15 al E17 (Altman y Bayer 1990).

## **AFERENCIAS Y EFERENCIAS**

Desde los estudios realizados por Lorenté de Nó (1934) se ha podido describir el circuito principal del complejo hipocámpico al cual se le ha nombrado como circuito trisináptico (Fig. 3), y que se origina por la entrada de las fibras provenientes de la corteza entorrinal llamadas vía perforante las cuales se dirigen a las células granulares del giro dentado. Estas fibras, viajan dorsalmente y se doblan en el plano transversal, para llegar a la capa piramidal, del subiculum a lo largo de su eje longitudinal al entrar a cresta del giro dentado se bifurcan cruzando la cisura hipocámpica y de esta manera inervan a las células de los labios dorsal y ventral del giro dentado. Sus sinapsis ocupan las 2/3 partes del árbol dendrítico de las células granulares, además un número menor de fibras hace sinapsis en el estrato *lacunosum-moleculare* y en la capa molecular del subiculum. Estas células granulares son el primer relevo de la información que entra al circuito trisináptico (Steward, 1976; Amaral y Witter, 1989). El plexo musgoso de axones originado en las células granulares del giro dentado mandan sus axones a la capa polimorfa antes de entrar al CA3, la fibras musgosas que llegan a las células piramidales hacen sinapsis *en passant* sobre las dendritas apicales en el área de excrecencias localizadas en el estrato *lucidum* formando de esta manera las principales eferencias a la región CA3. En turno, se integra así el segundo relevo en el circuito trisináptico hipocámpico. A su vez las neuronas piramidales del CA3 mandan sus axones llamados colaterales de Schaffer a las células piramidales de CA1 donde hacen sinapsis con las dendritas apicales en el estrato *radiatum* de este campo llevándose acabo el tercer relevo sináptico.

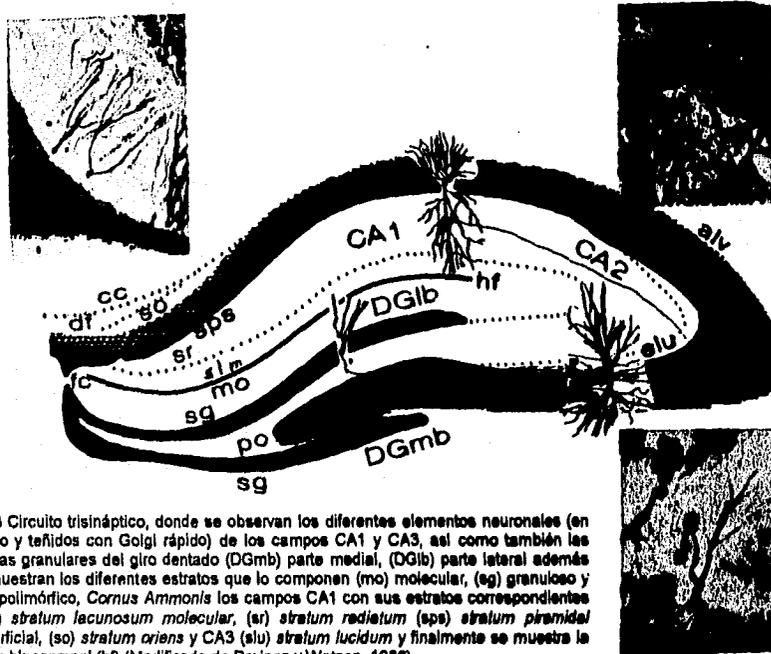


Fig 3 Circuito trisináptico, donde se observan los diferentes elementos neuronales (en dibujo y teñidos con Golgi rápido) de los campos CA1 y CA3, así como también las células granulares del giro dentado (DGmb) parte medial, (DGlb) parte lateral además se muestran los diferentes estratos que lo componen (mo) molecular, (sg) granuloso y (po) polimórfico, Cornus Ammonis los campos CA1 con sus estratos correspondientes (slm) *stratum lacunosum moleculare*, (sr) *stratum radiatum* (sps) *stratum piramidale superficial*, (so) *stratum oriens* y CA3 (slu) *stratum lucidum* y finalmente se muestra la fisura hipocámpica (hf) (Modificado de Paxinos y Watson, 1986).

Las células piramidales de CA1 mandan la mayor parte de sus fibras a la corteza subicular y un número menor se dirige hacia las partes profundas de la corteza entorrinal. Por otro lado, las fibras del subiculum dirigen sus proyecciones tanto al pre y parasubiculum como a la corteza entorrinal. Los axones de los dos primeros, también dan origen de axones que se dirigen hacia las capas III y II de la corteza entorrinal cerrando así el circuito (Amaral y Witter, 1999).

### **FUNCIONES DEL HIPOCAMPO**

Las relaciones anatómicas complejas del hipocampo sugieren que interviene en funciones sensoriales variadas en las que participan diferentes regiones neurales, en la conducta emocional, en la regulación visceral y endocrina, en los procesos de condicionamiento y aprendizaje y en la organización de la memoria, entre otros. Se han realizado diversos experimentos provocando estímulos olfatorios, visuales, auditivos y táctiles y se ha registrado actividad theta hipocámpica, esto permite suponer que el hipocampo probablemente represente un nivel de análisis e integración de la información sensorial, y de acuerdo con esto, el hipocampo intervendría en procesos de alertamiento cortical (Lopez-Antunez, 1986).

En los humanos se ha relacionado con la memoria anterógrada (referente a recuerdos recientes), los primeros estudios se realizaron en un individuo con remoción bilateral media del lóbulo temporal que incluía al hipocampo al recuperarse quedó con deficiencia de integración en la memoria, por este caso y por otros en pacientes con el mismo tipo de cirugía se probó la participación de la formación hipocámpica en la integración de la memoria (Brown y Wallace, 1985).

Las lesiones en el hipocampo producen también algunas deficiencias, sobre todo en problemas espaciales, por ejemplo Jarrard (1983) usó un laberinto circular que tenía ocho fuentes de alimento diferentes situadas en distintos lugares para probar la capacidad espacial de las ratas que habían sufrido lesiones hipocámpicas. Algunos de los animales fueron lesionados después de que habían sido entrenados, y otros, antes de que se entrenaran en esta tarea espacial. Los animales con lesiones en el hipocampo se desempeñaron mal a pesar de que ya habían sido entrenadas en la tarea antes o después de la operación. Esto sugiere que la lesión producía deficiencia tanto en la capacidad de efectuar tareas aprendidas antes de la lesión como en la capacidad de adquirir nuevas tareas.

Para poder encontrar la forma de relación entre el aprendizaje y la memoria con el procesamiento de la información en el hipocampo, se ha analizado la plasticidad sináptica de los potenciales extracelulares, a esta plasticidad, que se encuentra en las células del hipocampo, se ha denominado potenciación a largo plazo y esto se refiere a que después de una serie de estímulos de baja frecuencia, la actividad de espiga de los potenciales excitadores postsinápticos aumenta y permanece alta durante horas. Este tipo de intensidad a largo plazo puede muy bien participar en la memoria y el aprendizaje Barnes (1988).

## PERIODOS CRÍTICOS

Dobbing (1970) planteó que existe un periodo único en el crecimiento cerebral en el que este órgano experimenta procesos fundamentales de su desarrollo, por lo que es especialmente sensible a las restricciones nutricionales y a otros tipos de estímulos agresivos, esto no es constante a través del desarrollo ya que los diferentes procesos del crecimiento varían

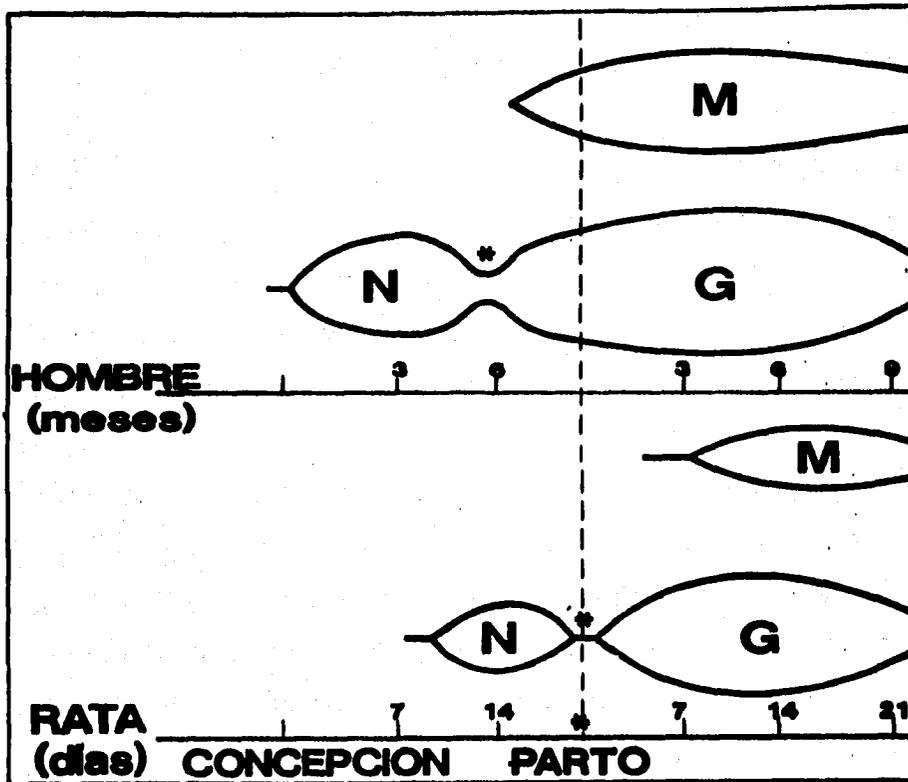


Fig. 4. Diagrama donde se muestran los periodos críticos del desarrollo y maduración de los elementos neuronales en el sistema nervioso central en la rata y en el hombre. Neurogénesis (N), Gliogénesis (G) y mielinogénesis (M). \* inicio del periodo vulnerable (Modificado de Benesová and Paulik, 1984).

temporalmente dependiendo del área cerebral de la que se trate. Los efectos de algún estímulo agresivo en etapas tempranas del desarrollo del SNC, ocasionarían secuelas físicas y conductuales permanentes (Dobbing y Sands, 1971). Por lo tanto el periodo crítico se refiere a un periodo de tiempo (horas, días, meses dependiendo de la especie de la que se trate) y que se observa en los organismos en la etapas prenatal o perinatal, este se puede comparar con una campana de Gauss donde se observa que en el pico máximo se localizaría el periodo vulnerable, que es un periodo corto de tiempo en el cual si instalamos un insulto en este momento los daños ocasionados serán irreversibles. En los extremos de la campana se localizarían las etapas sensibles (periodos críticos), cuya característica principal es que si instalamos un insulto en este momento los daños ocasionados si se pueden revertir.

Las etapas vulnerables generalmente se inician cuando se está completando la etapa de multiplicación celular, esto trae como consecuencia que esta etapa no se vea tan alterada y por lo tanto no afectar el número total de neuronas, los que si se ven afectados son los procesos de diferenciación y la maduración neuronal, el desarrollo de conexiones interneuronales (aumento en el número de ramificaciones axónicas y dendritas así como también el número de espinas), la multiplicación de células gliales y el proceso de mielinización del SNC, por lo tanto insultos en estos periodos provocaran un daño irreversible (Dobbing y Smart, 1973, 1974).

En la rata, se han descrito diferentes periodos vulnerable (Fig. 4) que abarcan las tres primeras semanas postnatales mientras que en el hombre se extienden desde el final del segundo trimestre de la gestación hasta los dos años de vida postnatal (Dobbing y Sands, 1971, Dobbing y Smart, 1973 ). Como sabemos el desarrollo del SNC se lleva a cabo de manera heterocrónica por lo tanto los periodos vulnerables serán diferentes para cada región del

SNC, así las regiones que maduran más tempranamente son menos afectadas por la desnutrición postnatal que las que lo hacen en forma tardía (Altman y cols., 1971).

## **DESNUTRICIÓN**

La desnutrición es un problema actual que se extiende a grandes grupos de la población mundial, en México existen aproximadamente 2.5 millones de niños desnutridos, es por esto que en las últimas décadas se ha mostrado gran interés para determinar los efectos que la desnutrición causa al organismo principalmente al SNC. En los humanos que sobreviven a la desnutrición se ve afectado su crecimiento, son personas débiles, con un sistema inmunológico poco eficiente, por lo que son muy susceptibles a contraer enfermedades infecciosas, además tienen problemas de aprendizaje y memoria, y de hipercinesia (Chavez, 1995).

Para poder entender los efectos que la desnutrición causa a nivel anatómico y fisiológico se han elaborado modelos experimentales en donde se ha variado el tipo de dieta hipocalórica, hipoproteínica o pluricarencial, en la rata albina. esta especie al igual que los humanos son altriciales, por lo que resulta válido la comparación de los efectos que la desnutrición causa durante el desarrollo cerebral (Cintra y Díaz-Cintra, 1985).

Los primeros estudios de la desnutrición en el desarrollo del SNC fueron hechos por Sugita en 1918, desde entonces se sabe que la desnutrición instalada en etapas tempranas del desarrollo cerebral ocasiona un retraso en el crecimiento y desarrollo en las neuronas. Winick en 1970, realizó estudios en el SNC instalando desnutrición en etapas tempranas del desarrollo y observó un retraso en la migración celular y en la síntesis de mielina.

También los estudios morfológicos han mostrado que la privación de alimento en la rata, reduce el volumen cerebral (Stewart, 1971), principalmente por la reducción del árbol dendrítico, donde se ve afectada tanto la densidad de las dendritas como la densidad de las espinas, la consecuencia funcional de todo esto es que disminuye la capacidad de formar nuevas interconexiones y se reduce la posibilidad de la respuesta plástica del SNC.

Las alteraciones que sufre el SNC también involucran los procesos gliales, en estudios realizados por Robain y Ponsot (1978), se observaron decrementos de hasta un 50% en el número de células gliales, así como alteraciones en su maduración. La desnutrición también altera los procesos de migración de los oligodendrocitos, por lo que se ve afectada la mielinización en el SNC, esto se manifiesta por una reducción en el número de capas de mielina. Así el crecimiento axonal y su subsecuente mielinización se ven afectados de forma permanente por la desnutrición pre y postnatal (Sima y Sourander, 1978).

La desnutrición tiene efectos diferentes en cada nivel anatómico del SNC. Estudios en la corteza cerebral, muestran que la desnutrición temprana afecta más a las neuronas localizadas en las capas más profundas que aquellas de las capas más superficiales, además se observan decrementos en el número de espinas, esto ocasiona la reducción de las interconexiones, alterando la capacidad integrativa de estos circuitos (Salas y cols. 1978). En la corteza cerebral motora y visual de la rata, la desnutrición ocasiona disminución en el grosor de las distintas capas que la componen.

En el cerebelo, también se han realizado estudios, instalando desnutrición pre y postnatal, observándose reducciones en la capa, en las células de Purkinje se observa una densidad mayor, sin embargo presentan

decrementos en la longitud de las dendritas y del número de espinas (Cios y col, 1977).

Morgane y col, (1982), analizaron el efecto de la desnutrición en los núcleos aminérgicos del tallo cerebral que son el rafe dorsal y el *locus coeruleus*, describiendo que el efecto de la desnutrición hipoproteínica produce alteraciones en estas dos estructuras en lo que respecta al árbol dendrítico encontrándose tanto decrementos como incrementos en la densidad de las dendritas así como en el número de espinas, ésto se ha llamado crecimiento dendrítico fuera de fase.

### **DESNUTRICION E HIPOCAMPO**

En estructuras centrales como el hipocampo que presentan poblaciones celulares con patrones diferentes de desarrollo, la desnutrición pre y postnatal causa efectos selectivos según el patrón de desarrollo. En estudios de Lewis y Cols. (1979) por disminución de la cantidad de alimento normal a un 50% en etapas pre y postnatales, encontraron prolongación del ciclo celular, alargamiento de la fase S y acortamiento de G1 a los 12 días, así como reducción en el número de células granulares. En los estudios de Jordan y Cols. (1982) quienes instalaron la desnutrición durante las etapas de gestación y la lactancia, también encontraron disminución en la densidad de células granulares. En el modelo de la desnutrición prenatal con el 50% de la dieta, Katz y Davis (1982) observaron decrementos en el *grocor* del hipocampo. En el mismo modelo de desnutrición pero a partir del día P18 hasta el día P250, Ahmed y cols. (1987) observaron una mayor densidad de células granulares y más sinapsis, en el día E18, y un número menor de sinapsis y de células granulares en los días P75 y P250. Paula-Barboza y cols. (1989) elaboró un modelo experimental de desnutrición donde utilizó posnatalmente, una dieta

decrementos en la longitud de las dendritas y del número de espinas (Cios y col, 1977).

Morgane y col, (1982). analizaron el efecto de la desnutrición en los núcleos aminérgicos del tallo cerebral que son el rafe dorsal y el *locus coeruleus*, describiendo que el efecto de la desnutrición hipoproteínica produce alteraciones en estas dos estructuras en lo que respecta al árbol dendrítico encontrándose tanto decrementos como incrementos en la densidad de las dendritas así como en el número de espinas, esto se ha llamado crecimiento dendrítico fuera de fase.

### **DESNUTRICION E HIPOCAMPO**

En estructuras centrales como el hipocampo que presentan poblaciones celulares con patrones diferentes de desarrollo, la desnutrición pre y postnatal causa efectos selectivos según el patrón de desarrollo. En estudios de Lewis y Cols. (1979) por disminución de la cantidad de alimento normal a un 50% en etapas pre y postnatales, encontraron prolongación del ciclo celular, alargamiento de la fase S y acortamiento de G1 a los 12 días, así como reducción en el número de células granulares. En los estudios de Jordan y Cols. (1982) quienes instalaron la desnutrición durante las etapas de gestación y la lactancia, también encontraron disminución en la densidad de células granulares. En el modelo de la desnutrición prenatal con el 50% de la dieta, Katz y Davis (1982) observaron decrementos en el grosor del hipocampo. En el mismo modelo de desnutrición pero a partir del día P18 hasta el día P250, Ahmed y cols. (1987) observaron una mayor densidad de células granulares y más sinapsis, en el día E18, y un número menor de sinapsis y de células granulares en los días P75 y P250. Paula-Barbosa y cols. (1989) elaboró un modelo experimental de desnutrición donde utilizó posnatalmente, una dieta

baja en proteínas (8% de caseína) desde los 2 hasta los 6, 12 y 18 meses, encontrando reducciones en el grosor de la capa granular del GD y del área del *Asta de Ammon 3* (CA3).

En otro modelo experimental realizado por Díaz-Cintra y Cols. (1991) se utilizó una dieta de 6% de caseína en etapas prenatales, encontrando en las células granulares del GD disminuciones en el tamaño celular, en el número de espinas dendríticas en tres edades estudiadas (30, 90 y 220 días) y únicamente en las edades de 90 a 220 días se observaron decrementos en la densidad de las ramas dendríticas.

Bedi (1991) instaló desnutrición en las etapas de gestación y lactancia a partir del día E18 hasta los P212 por disminución en la cantidad de alimento entre un 40-60%, observando decrementos en el número de células granulares encontrando 512,000 células a partir del día P212 en comparación con los grupos controles en las que se encontraron 834,000 células. Sin embargo en animales de 70 días de edad no encontró diferencias significativas en la densidad de las células granulares. La densidad de las sinapsis también se ha reportado estar disminuida en animales desnutridos de 6, 12 y 18 meses posnatales entre las fibras musgosas del giro dentado y las células piramidales del CA3 (Andrade y col, 1991). Los estudios de la región hilar del giro dentado por Granados, L. (1995) muestran decrementos a largo plazo (animales de 220 días de edad) del área total ocupada por las fibras musgosas del hipocampo, en ratas desnutridas prenatalmente. En neuronas piramidales del campo CA1, Aguilar A. (1995) encontró alteraciones en el tamaño del soma, así como reducciones en la longitud de las dendritas en edades postnatales de 30 y 220 días cuando se instala una desnutrición prenatal. En estudios morfométricos de las células piramidales del CA3, en animales con desnutrición crónica hipoproteínica se encontraron decrementos en el perímetro y en el eje mayor

del soma en animales de 220 días de edad, además decrementos en el diámetro de la dendrita apical en los animales de 30 y 90 días de edad, que se localizaron también en el sitio de sinapsis entre las fibras musgosas y el área de excrecencias en animales de 30 días de edad (García-Ruiz y col. 1993). En esta misma área pero utilizando desnutrición prenatal solamente (6/25), Díaz-Cintra y col (1994), observaron decrementos significativos en el tamaño del soma, así como, en el número de espinas. Además, para comparar los efectos de la desnutrición posnatal, recientemente Parra (1995), estudió morfométricamente las células piramidales de esta misma área (CA3) en animales de 30 y 90 días de edad encontrando decrementos significativos en el tamaño del soma, así como también en las dendritas basales y apicales aunado a una disminución en el número de espinas y del área de excrecencias.

## **HIPOTESIS**

Si la desnutrición es un factor extrínseco que altera los patrones normales de maduración y desarrollo de las células granulares del giro dentado y ésta se instala en las etapas prenatal o postnatal o ambas, entonces las alteraciones provocadas dependerán de los periodos críticos de desarrollo de éstas células, ya que sabemos que el pico máximo de generación ocurre en etapas postnatales, con ésto suponemos que las alteraciones más severas se observarán en los animales sometidos a una desnutrición postnatal.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar como afecta la desnutrición hipoproteínica prenatal, la postnatal y la crónica moderada, en el desarrollo y maduración de las células granulares del giro dentado en animales de 30 días de edad.

## **OBJETIVOS**

Establecer las semejanzas y diferencias de la desnutrición hipoproteínica, pre, posnatal y ambas, en el peso corporal y cerebral de los animales experimentales al ser comparados con el grupo control.

Estudiar morfológicamente en las células granulares del giro dentado, los efectos de la desnutrición hipoproteínica en diferentes parámetros celulares, como el tamaño del soma, y densidades dendrítica y de espinas.

Determinar si los efectos producidos sobre las células granulares por la desnutrición prenatal pueden ser revertidos, mediante la rehabilitación nutricional postnatal.

Efectuar comparaciones de los diferentes paradigmas de desnutrición hipoproteínica utilizados y determinar cual es el que causa un daño mayor.

## **MATERIAL Y METODO**

### **ANIMALES**

Se emplearon un total de 50 hembras primíparas y 17 machos de la cepa Sprague-Dowley para realizar las cruces, cuyos pesos corporales oscilaban entre 250-300 gr, se colocaron en cajas de acrílico individuales, todos los animales se mantuvieron en condiciones optimas de bioterio, la luz se mantuvo en el cuarto con ciclo invertido de luz oscuridad (luz de 8:00 a.m. a 20:00 p.m.), la temperatura entre 20 a 24°C, durante todo el día, niveles de humedad entre 40 y 50% y con libre acceso al agua y al alimento.

### **CONDICIONES NUTRICIONALES**

Las dietas hipoproteínicas fueron utilizadas en modelos experimentales (Morgane y col. 1978) en este caso la proteína empleada fue la caseína, (las dietas se adquirieron de Cía Teklad Mills, de Madison, WI, EUA), las

características de la composición nutricional de las dietas son las siguientes: a) dieta control con contenido de caseína 25%, b) dieta con contenido de caseína 6%, c) dieta con contenido de caseína 8%, como la caseína tiene contenidos bajos de aminoácidos sulfurados, las dietas se complementaron con L-metionina, ya que el no tenerse un suministro adecuado en algunos de los aminoácidos esenciales podrían existir cambios en los niveles de aminas biogénicas (Pasantes-Morales, 1992). Las dietas bajas en proteínas se les adicionó carbohidratos y grasa para compensar la cantidad de calorías faltante, en relación con las dietas comerciales normales que se suministran en los bioterios, también se complementaron las dietas bajas en proteína con fosfato de calcio mono (0.6%) y carbonato de zinc (0.001%), para mantener estos minerales a niveles encontrados en otras dietas (Tabla I).

#### **DISEÑO EXPERIMENTAL**

Los animales se dividieron en cinco grupos experimentales, dos grupos, alimentados con una dieta 25% de caseína, uno fue el grupo control, el segundo se formó con hembras nodrizas, el tercero fue alimentado con 6% de caseína (grupo desnutrido 6%), el cuarto de hembras nodrizas alimentadas con 6% de caseína y cinco hembras alimentadas con una dieta 8% de caseína (grupo desnutrido moderado 6%). Todos los grupos de animales fueron alimentados durante cinco semanas previas al apareamiento, ésto para adaptar el metabolismo de la madre a las condiciones experimentales de desnutrición requeridas, ya que se sabe que la madre puede tener reservas nutricionales que alterarían las condiciones que se requieren para mantener un modelo de desnutrición adecuado (Morgane y cols., 1978).

**TABLA I.**

**COMPOSICION NUTRICIONAL DE LAS DIETAS**

**COMPONENTES**

**DIETAS\***

|                         | 25%  | 6%    | 8%   | DIETA COMERCIAL |
|-------------------------|------|-------|------|-----------------|
| PROTEINAS               | 21.8 | 5.3   | 7.0  | 28.3            |
| GRASAS                  | 15.4 | 15.0  | 15.1 | 7.1             |
| CARBOHIDRATOS           | 50.9 | 68.8  | 67.9 | 42.9            |
| MEZCLA DE SALES         | 4.7  | 4.0** | 4.7  | 3.5             |
| MEZCLA DE VITAMINAS     | 1.0  | 1.0   | 1.0  | 1.0             |
| AGUA                    | 2.2  | 1.2   | 0.9  | 9.8             |
| ELEMENTOS NO NUTRITIVOS | 4.2  | 4.2   | 4.2  | 4.2             |
| Kcal/g                  | 4.3  | 4.3   | 4.3  | 4.3             |

\*Complemento de la dieta con L. metionina (0.4%) debido a la ausencia de este aminoácido esencial en la caseína.

\*\*Complemento de la dieta con fosfato de calcio monobásico (0.6%) y carbonato de zinc (0.001%) a la mezcla de sales para mantener estos minerales a niveles encontrados en otras dietas.

## **CRUZAS**

La cruce se realizó colocando a un macho con tres hembras, durante un periodo de diez días alimentadas con la dieta respectiva, el tiempo de embarazo se marcó cuando en el frotis vaginal había espermatozoides, al décimo día de apareamiento los machos fueron retirados de las cajas. Pasados 21 días desde que se realizó el apareamiento las hembras fueron trasladadas a cajas individuales de plástico de maternidad, Al nacimiento de las crías, de cada condición experimental se homogeneizaron las camadas, así las crías que nacían el mismo día se juntaron en una sola caja (8 crías) con una hembra gestante, a los 21 días se realizó el destete separando las crías de la madre, las pupas se dividieron en los siguientes grupos experimentales: 1) grupo control alimentadas pre y postnatalmente con 25% de caseína (25/25), 2) crías de madres alimentadas prenatalmente con 25% de caseína y postnatalmente con 6% de caseína (25/6), 3) crías de madres desnutridas alimentadas con 6% de caseína y rehabilitadas nutricionalmente con madres nodrizas alimentadas con 25% de caseína (6/25), y 4 crías desnutridas moderadamente pre y postnatalmente con 8% de caseína (8/8), (Fig. 5).

## **TECNICA HISTOLOGICA**

Para poder realizar el experimento se emplearon un total de 24 ratas machos de 30 días de edad, de los cuales 6 animales fueron usados para cada condición experimental (25/25, 6/25, 25/6 y 8/8), además con el propósito de evaluar los efectos de la desnutrición sobre el desarrollo físico de los animales, el día del sacrificio, se tomó el pesos corporal y cerebral.

Una vez que las ratas llegaron a la edad requerida fueron anestesiadas por vía intraperitoneal con pentobarbital sódico, calculando la dosis dependiendo del peso corporal de cada animal, posteriormente fueron

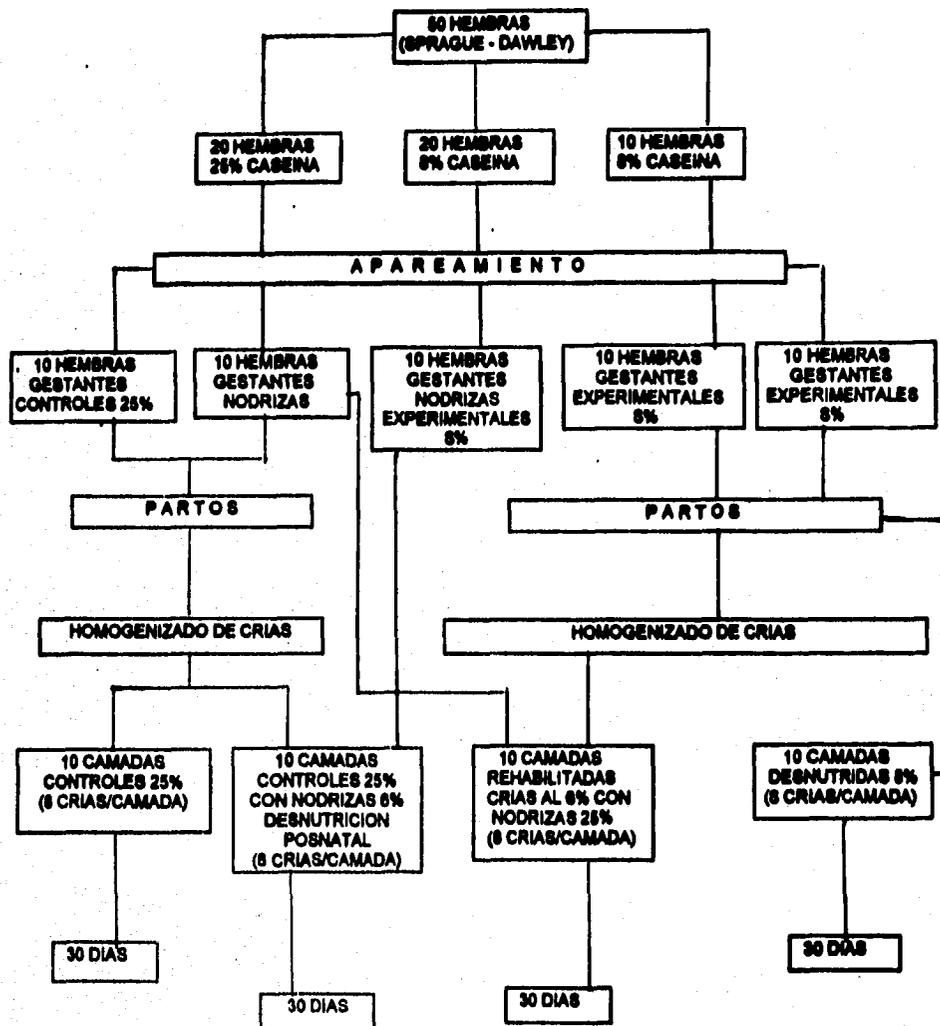
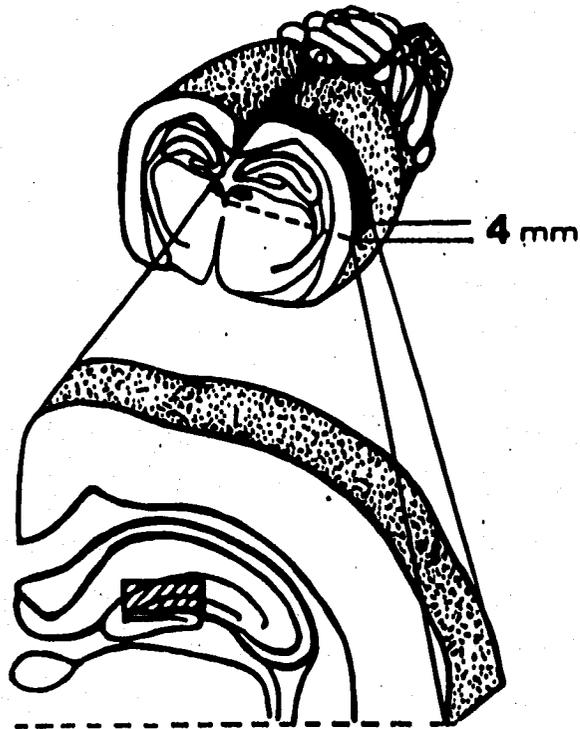


Fig. 5. Diagrama de bloques donde se muestran los paradigmas de desnutrición utilizados, así como también la cantidad de animales empleados para el trabajo experimental.



**Fig 6. Esquema que muestra el nivel en el cerebro de la rata de donde se tomó un bloque de 4 mm de grosor. Procesado con la técnica de Golgi rápido y seccionado a 120  $\mu$ m. El rectángulo pequeño es el área del giro dentado estudiado (Cintra y cols. 1990).**

sometidos a la perfusión intracardiaca realizada mediante la disección de la piel a nivel del tórax y cortando las costillas del lado izquierdo del esternón, para que el corazón quedara expuesto en la cavidad torácica, se introdujo en el ventrículo izquierdo una aguja que estaba conectada a una venoclisis que a su vez se comunicaba a un depósito que contenía la solución fijadora de formalina al 10% amortiguada a pH7 entrando ésta por vía sanguínea y así fijar el cerebro de la rata, junto con otros tejidos del cuerpo, simultáneamente se corto la aorta derecha para que la sangre drenara al exterior, y la solución fijadora circulara por todo el organismo.

Terminada la perfusión se introdujo el cuerpo del animal en una bolsa de plástico, con en propósito de que el tejido cerebral tomara una consistencia más firme dentro del cráneo se mantuvo por 12 horas, cumplido este tiempo se sacaron los cerebros de la cavidad craneana y ayudados por un atlas estereotáxico del cerebro de la rata (Paxinos, 1986) se ubicó el área de estudio que en este caso era el giro dentado del hipocampo; se hicieron pequeños bloques de 4 mm. de esta área del cerebro (Fig. 6) y se procesaron con la técnica de Golgi rápido (modificación de Díaz-Cintra y cols., 1981) que describimos a continuación.

Los bloques pequeños de 4 mm. se colocaron de 8 a 12 días en una solución de ácido ósmico preparada de la siguiente forma, 4 gramos de bicromato de potasio disuelto en 100 ml de agua destilada (80 ml), agregando una solución de 1 g de ácido ósmico disuelto en 100 ml de agua (20ml), posteriormente se realizó la diferenciación del tejido con nitrato de plata al 0.75% lavando hasta que el color rojo del bicromato de potasio desapareciera, finalmente se dejaron los bloques en un recipiente en la obscuridad con una cantidad abundante de nitrato de plata, de 24 horas aproximadamente.

Los bloques se sacaron y se lavaron con agua destilada limpiando suavemente la superficie del tejido con un pincel para eliminar el exceso de cristales de plata. A continuación se realizó la deshidratación de los bloques en alcoholes graduales (50%, 70%, 80%, 96% y absoluto) durante 30 minutos en cada uno, los bloques se colocaron en alcohol-éter volumen a volumen durante 8 horas.

Para llevar a cabo la inclusión los bloques de tejido cerebral se depositaron en frascos que contenían nitrocelulosa de baja viscosidad a diferentes concentraciones (5%, 15% y 20%) durante 24 horas en cada una y 48 horas en nitrocelulosa de 30%. Finalmente el tejido cerebral se acomodó en pequeños moldes de plástico con la nitrocelulosa al 30% en un desecador que contenía cloroformo para que los vapores de este endurecieran la nitrocelulosa, también fueron puestos a vacío por 12 horas para extraer las burbujas que pudieran quedarse en el bloque, posteriormente se montaron en la platina del del microtomo y se hicieron cortes de 120  $\mu\text{m}$  de grosor, ésto con el propósito de encontrar una mayor cantidad de células granulares íntegras.

Los cortes obtenidos se colectaron en charolas que contenían los alcoholes graduales necesarios para la deshidratación (70%, 80%, 96%, y alcohol absoluto) permaneciendo en estos 20 minutos después se cambiaron a alcohol isopropílico, terpinol por 20 minutos y finalmente en xilol 5 minutos en todos ellos se llevaron a cabo dos cambios, finalmente se montaron a porta objetos con resina sintética y se dejaron secar. Las preparaciones se etiquetaron y se ocultó la clave, para evitar una predisposición al momento de realizar las medidas se mezclaron para hacer el análisis morfométrico a ciegas.

## ANÁLISIS MORFOMÉTRICO

Se analizaron un total de 120 células granulares de la capa más superficial del labio dorsal del giro dentado (Fig. 7) ya que en estudios previos (Altman y Das, 1965; Bayer y Altman, 1974; Schlessinger y Cowan, 1975; Zimmer, 1978) se observó que las células granulares de la capa más superficial maduran en etapas más tempranas del desarrollo a diferencia de las células granulares de la capa más profunda, que maduran posteriormente, es decir existe una asimetría en cuanto al desarrollo, maduración y diferenciación del giro dentado. Los parámetros medidos en cada célula granular fueron los siguientes: A) Eje mayor y menor del soma medidos con objetivo planapocromático de 40X (Fig. 8), B) Densidad de las dendritas utilizando el método de Sholl, (Sholl, 1956) cruzando 8 círculos concéntricos de 38 micrones de separación con objetivo planapocromático de 40X (Fig. 9), C) Densidad de las espinas dendríticas, dividiendo la dendrita en 3 segmentos de 50 $\mu$ m (proximal, medial y distal) con un ocular microfilar y un objetivo de 63X de inmersión planapocromático. El número total de espinas en los tres segmentos dendríticos se calculó por el método de Feldman y Peters (1979), para considerar aquellas espinas que no son visibles. Para este cálculo, se considera en la fórmula, además del número de espinas visibles (ambos lados de la dendrita), el segmento de 50 micras, la longitud de la espina más larga localizada en este segmento y el diámetro del bulbo de la espina. Para poder medir tanto la longitud como el diámetro del bulbo, se calibró un ocular microfilar y las observaciones se efectuaron con un objetivo de 63X de aceite de inmersión (Fig 10).

El resto de los parámetros celulares medidos (perímetro, ejes mayor y menor del soma) y la densidad dendrítica se efectuaron a través del microscopio fotónico y enviadas a la computadora, a través de una cámara de

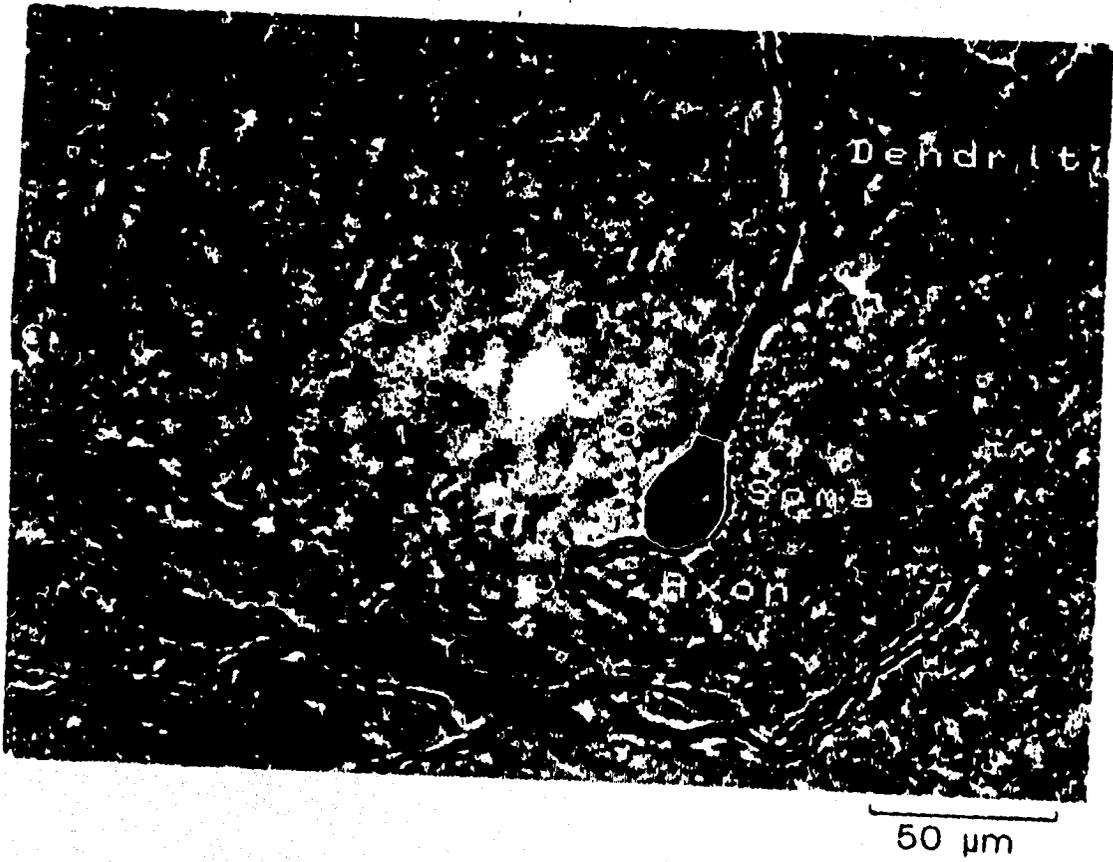
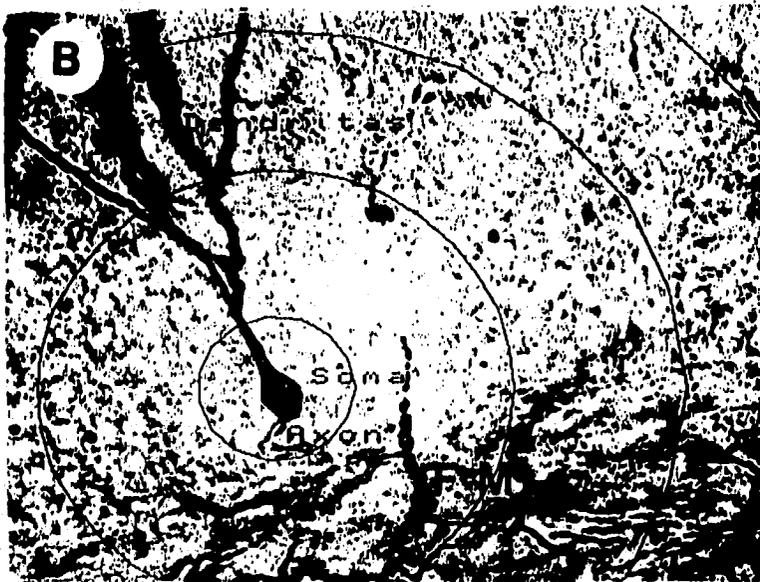
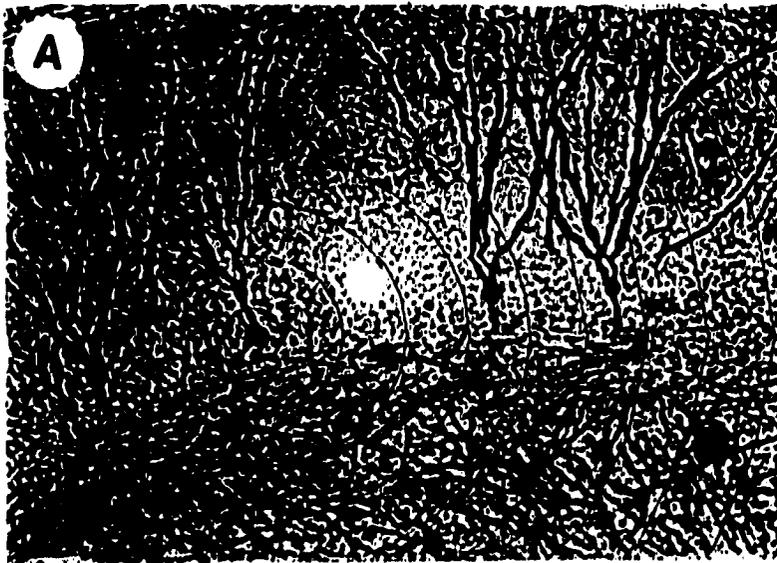


Fig. 8. Impresión laser 40X donde se muestra el método empleado para medir el tamaño del soma de las células granulares del giro dentado de la rata de 30 días de edad. También se señalan las partes que constituyen a cada célula granular.



50  $\mu$ m

Fig. 9. A) impresión laser de una neurona granular a 16X, que muestra la técnica de círculos concéntricos (cada uno con separación de 38  $\mu$ m) para determinar la densidad dendrítica de las células granulares del giro dentado. B) imagen de las intersecciones contadas en el primer y segundo círculo (\*) en un aumento de 25X. Note la densidad de las fibras musgosas (FM) en ambas figuras.

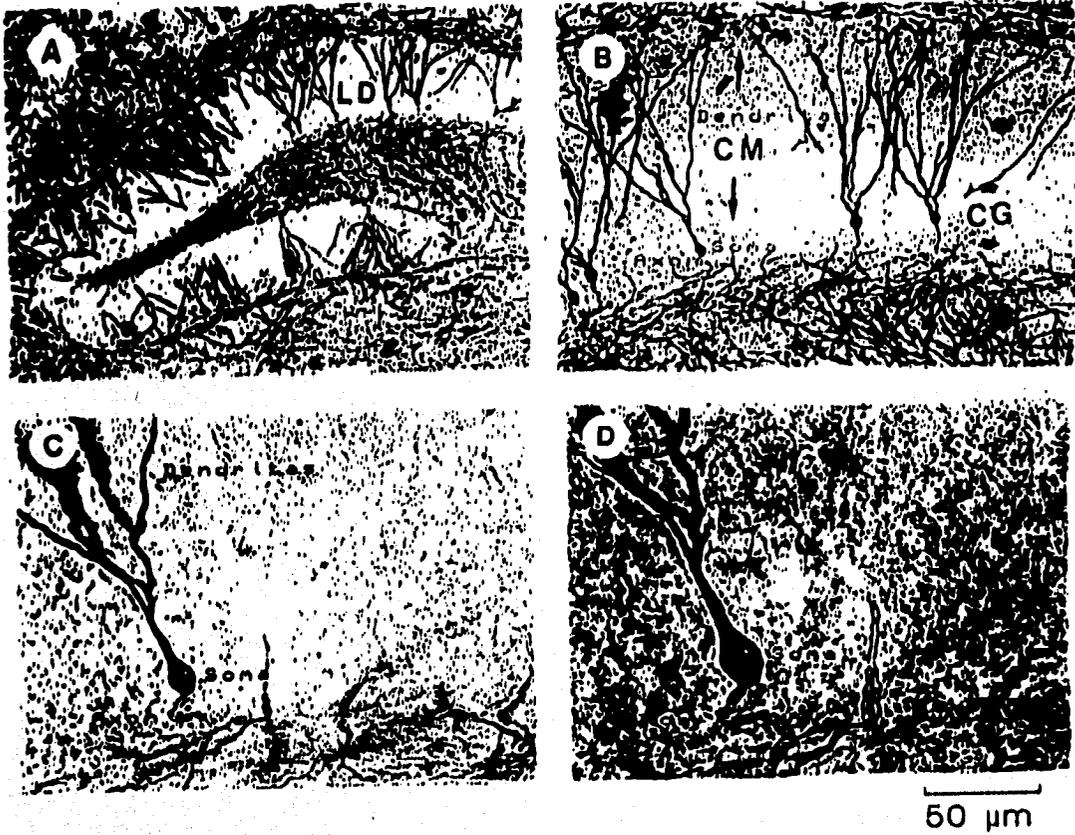


Fig. 7 Impresiones laser a diferentes aumentos A) El labio dorsal (LD) del giro dentado donde se realizó el estudio de las células granulares 4 X. B) Capas que constituyen al giro dentado, granular (CG), molecular (CM) y polimórfica (CP) a 16 X, C) Célula granular del giro dentado mostrando las diferentes partes que la constituyen a 25 X y D) 40 X.

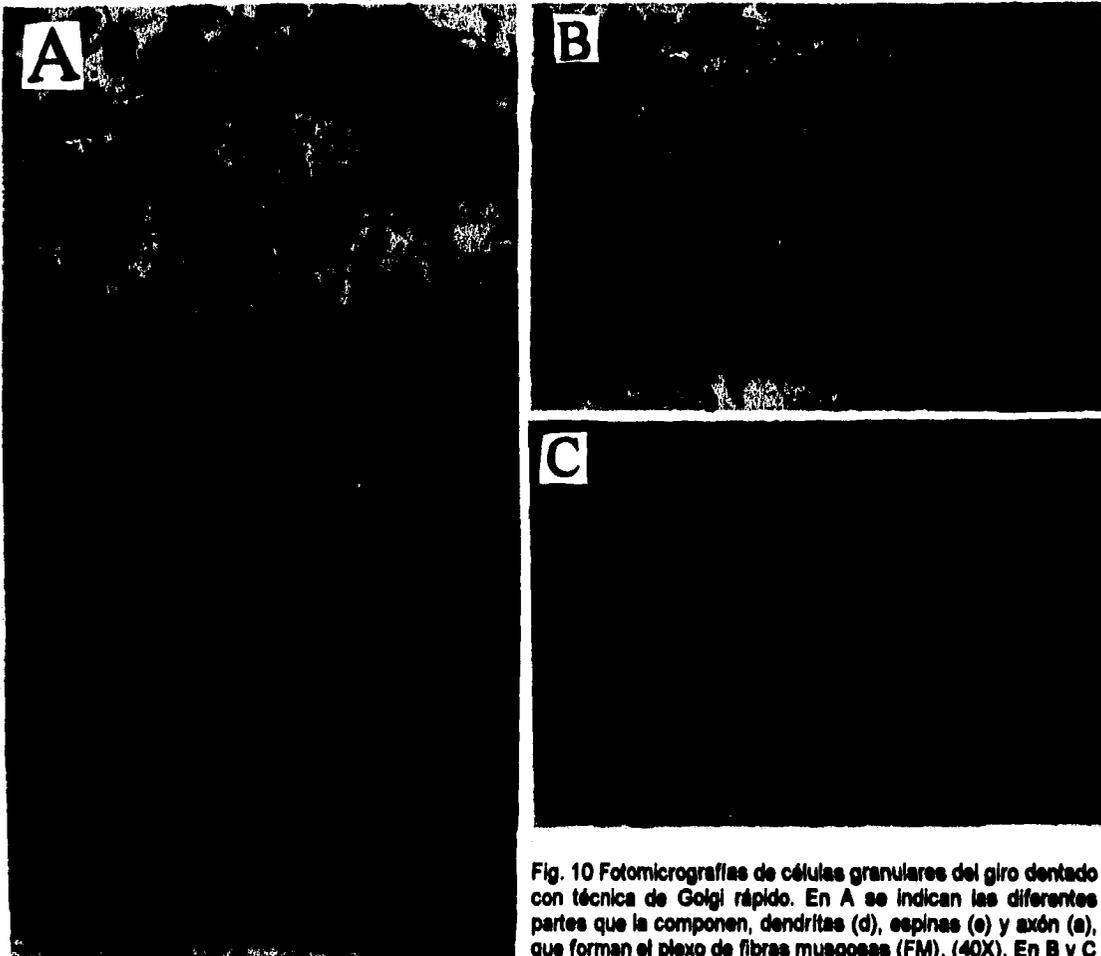


Fig. 10 Fotomicrografías de células granulares del giro dentado con técnica de Golgi rápido. En A se indican las diferentes partes que la componen, dendritas (d), espinas (e) y axón (a), que forman el plexo de fibras musgosas (FM), (40X). En B y C la misma célula granular a 16X y 25X respectivamente, capa granular (CG) y capa molecular (CM).

video, como imágenes analógicas que se digitalizaron mediante el programa HISTO 2000 (Corkidi, 1989) (Fig. 8 y 9).

Una vez obtenidas todas las mediciones se analizaron estadísticamente con ANOVA de una vía para determinar las posibles variaciones entre los grupos experimentales y una prueba de Tukey para discernir específicamente que grupos diferían significativamente ( $p < 0.05$ ). Los cálculos se efectuaron con el programa estadístico SPSS (Social Package for the Social Science).

## **RESULTADOS**

### **PESO CORPORAL**

Los resultados del análisis estadístico (ANOVA de una vía) con respecto a peso corporal y peso cerebral están contenidos en la tabla II, y en las figuras 11 y 12. La desnutrición prenatal redujo significativamente el peso corporal (18%), sin embargo, el efecto fue más marcado con la desnutrición postnatal (67%). Un efecto similar produjo la desnutrición pre y postnatal con 8% de caseína (54%) (Fig. 11), así mismo al someter los datos a la prueba estadística de Tukey nos permite hacer comparaciones entre los grupos experimentales obteniendo los siguientes resultados: disminución en el peso corporal 44% y 60% respectivamente cuando se compara el grupo desnutrido prenatalmente (6/25) con el grupo desnutrido crónico moderado (8/8) y el desnutrido postnatalmente (25/6).

### **PESO CEREBRAL**

Asimismo, cuando los animales se sacrificaron y se obtuvieron los pesos cerebrales, se observaron decrementos significativos de  $p < 0.05$  en los grupos desnutridos prenatalmente y rehabilitados postnatalmente (19%), así como también en el grupo desnutrido postnatalmente (17%). Cuando se compararon

**TABLA II.**

*Análisis estadístico (ANOVA de una vía/prueba de Tukey) que compara los valores promedio de los diferentes grupos experimentales: desnutridos crónico moderado (8/8), desnutrido prenatalmente, con la subsecuente rehabilitación nutricional (6/25) y desnutridos postnatalmente (25/6) entre sí y con el grupo control (25/25) en animales de 30 días de edad.*

|                         | 25/25 VS 6/25 | 25/25 VS 25/6 | 25/25 VS 8/8 | 6/25 VS 8/8 | 6/25 VS 25/6 | 8/8 VS 25/6 |
|-------------------------|---------------|---------------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| 34 <b>PESO CORPORAL</b> | -18%*         | -67%*         | -54%*        | -44%*       | -60%*        | NS          |
| <b>PESO CEREBRAL</b>    | -19%*         | -17%*         | NS           | NS          | NS           | NS          |

\*: Diferencias significativas a una  $p < 0.05$ .

El signo colocado a la izquierda de cada valor representa que el valor del grupo de la derecha es significativamente menor (-) que el valor de la izquierda.

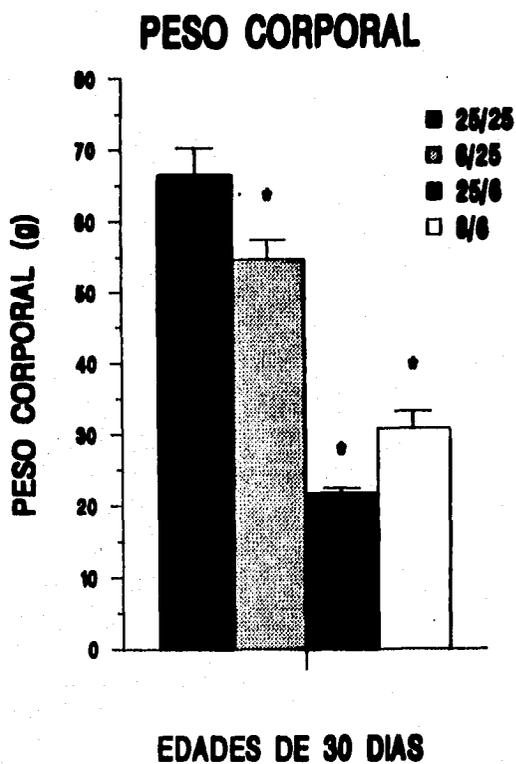


Fig. 11. Efecto de la desnutrición prenatal y la rehabilitación nutricional postnatal (6/25), desnutrición postnatal (25/6) y desnutrición crónica moderada (6/6), en el peso corporal de ratas de 30 días de edad. Note el decremento significativo ( $*p < 0.05$ ) en todos los paradigmas de desnutrición utilizados, cuando se comparan con el grupo control.

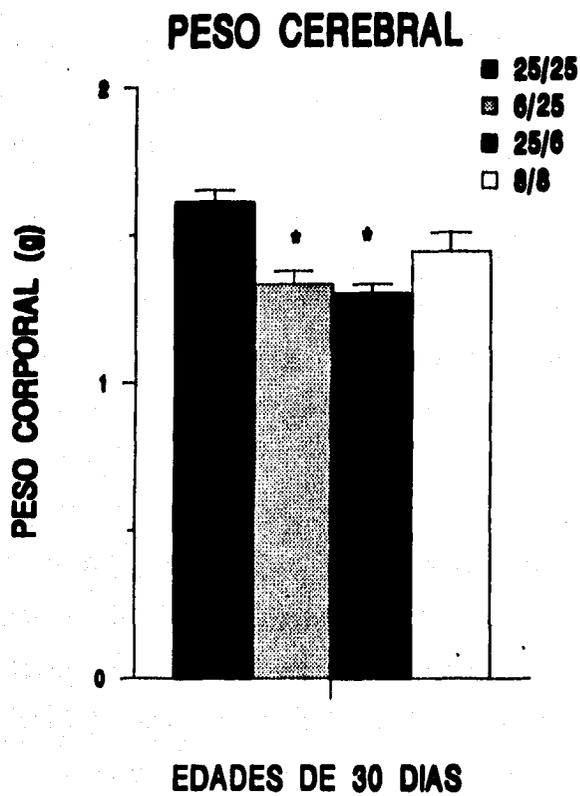


Fig.12. Efecto de la desnutrición prenatal y la rehabilitación nutricional postnatal (6/25), desnutrición postnatal (25/6) y desnutrición crónica moderada (8/8), en el peso cerebral en ratas de 30 días de edad. Note el decremento significativo ( $*p<0.05$ ) en el grupo desnutrido prenatalmente y rehabilitado postnatalmente, así como también en el grupo desnutrido postnatalmente.

el grupo control (25/25), y en el grupo desnutrido crónico moderado (8/8), no se encontraron diferencias significativas (Fig. 12), de igual forma cuando se realizan las comparaciones entre los grupos experimentales no se observan diferencias significativas.

## **1. MEDICIONES DEL SOMA**

Los efectos de la desnutrición sobre el desarrollo de las células granulares del giro dentado en los parámetros celulares medidos están contenidos en la Tabla III y en las figuras 13 y 14.

### **A) Eje mayor**

El tamaño celular se redujo significativamente ( $p < 0.05$ ) por la desnutrición prenatal en un 20% al comparar el grupo experimental (8/25), con el control (25/25), (Fig. 13). Sin embargo, al efectuar las comparaciones entre los grupos experimentales se encontraron incrementos cuando se comparó el grupo desnutrido crónico moderado (8/8) y el grupo desnutrido postnatalmente (25/6) el incremento fue del 15% y con con el grupo desnutrido prenatalmente (6/25), el incremento encontrado fue del 21% (Tabla III).

### **B) Eje menor**

En el eje menor se encontraron decrementos significativos ( $p < 0.05$ ) del 16% en el grupo 6/25 y del 8% en el grupo 8/8 cuando se comparó con el grupo control 25/25, asimismo no se observaron diferencias en el grupo desnutrido postnatalmente (25/6), cuando se comparó con el grupo control (Fig. 14). En las comparaciones realizadas entre los grupos experimentales, se observó únicamente incremento del 14% en el grupo 25/8 cuando se comparó con el grupo (6/25).

**TABLA III.**

*Análisis estadístico (ANOVA de una vía /prueba de Tukey) que compara los valores promedio de los diferentes grupos experimentales: desnutridos crónicamente moderado (8/8), desnutrido prenatalmente, con la subsecuente rehabilitación nutricional (6/25) y desnutridos postnatalmente (25/6) entre sí y con el grupo control (25/25) en animales de 30 días de edad.*

|                   | 25/25 VS 6/25 | 25/25 VS 25/6 | 25/25 VS 8/8 | 6/25 VS 8/8 | 6/25 VS 25/6 | 8/8 VS 25/6 |
|-------------------|---------------|---------------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| <b>SOMA:</b>      |               |               |              |             |              |             |
| Eje mayor         | -20%*         | NS            | NS           | +15%        | +21%*        | NS          |
| Eje menor         | -16%          | NS            | -8%*         | NS          | +14%*        | NS          |
| <b>DENDRITAS:</b> |               |               |              |             |              |             |
| Círculo 1(38µm)   | NS            | NS            | -21%*        | NS          | NS           | NS          |
| Círculo 2(76µm)   | NS            | -19%*         | -18%*        | -20%*       | -22%*        | NS          |
| Círculo 3(114µm)  | NS            | -30%*         | -12%*        | -13%*       | -31%*        | -21%*       |
| Círculo 4(152µm)  | NS            | -48%*         | NS           | NS          | -50%*        | -47%*       |
| Círculo 5(190µm)  | NS            | -58%*         | NS           | NS          | -54%*        | -55%*       |
| Círculo 6(228µm)  | -21%*         | -62%*         | NS           | +21%*       | -51%*        | -61%*       |
| Círculo 7(266µm)  | -22%*         | -86%*         | NS           | +26%*       | -83%*        | -87%*       |
| Círculo 8(304µm)  | -64%*         | -96%*         | NS           | +63%*       | -90%*        | -96%*       |
| <b>ESPINAS:</b>   |               |               |              |             |              |             |
| Proximales        | -16%*         | +16%*         | NS           | NS          | +30%*        | +21%*       |
| Mediales          | NS            | +22%*         | NS           | NS          | +17%*        | +21%*       |
| Distales          | -17%*         | NS            | -18%*        | NS          | +24%*        | +25%*       |

\*: Diferencias significativas a una  $p < 0.05$  grupo de la

El signo colocado a la izquierda de cada valor representa que el valor del derecho es significativamente menor (-) o mayor (+) que el valor de la izquierda.

# SOMAS

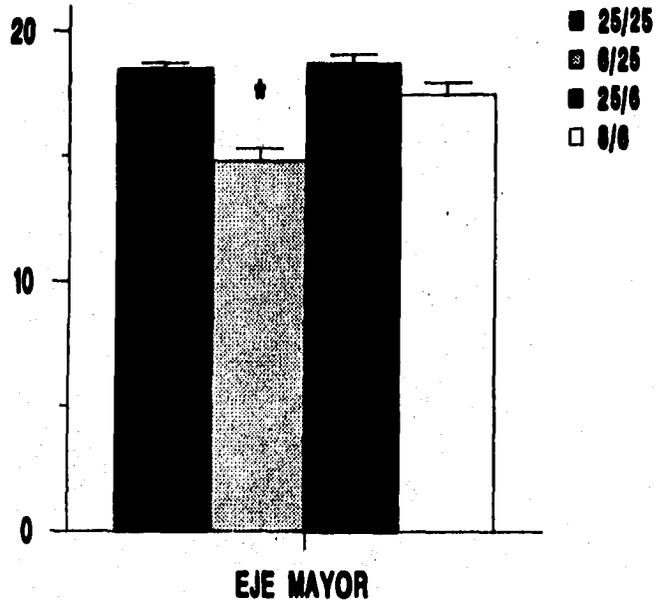


Fig. 13 Efectos de la desnutrición prenatal y la subsecuente rehabilitación nutricional (6/24), desnutrición postnatal (25/6) y desnutrición crónica moderada (8/8) en las células granulares del giro dentado de la rata de 30 días de edad, observándose decrementos significativos ( $*p < 0.05$ ) en el eje mayor del soma, únicamente en el grupo 6/25 cuando se compara con el grupo control (25/25).

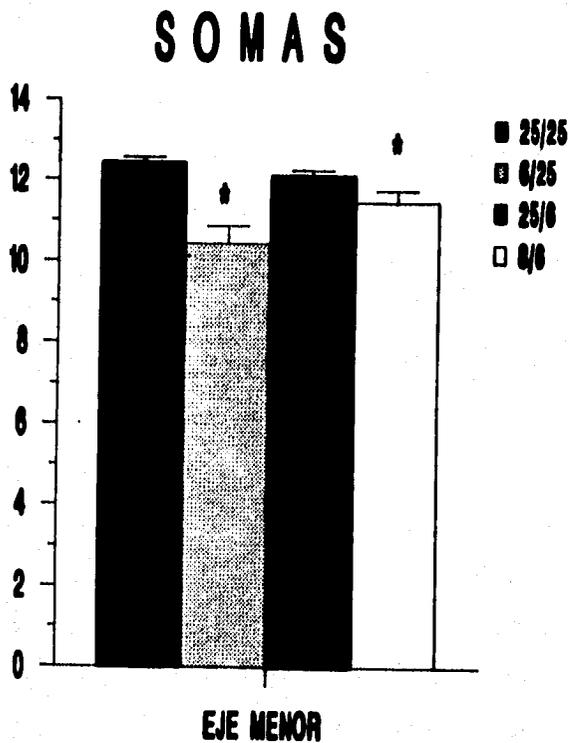


Fig. 14 Efectos de la desnutrición prenatal y la subsecuente rehabilitación nutricional (6/25), desnutrición postnatal (25/6) y desnutrición crónica moderada (8/8) en las células granulares del giro dentado de la rata de 30 días de edad, observándose decrementos significativos (\* $p < 0.05$ ) en el eje menor del soma, únicamente en el grupo 6/25 y 25/6 cuando se comparan con el grupo control (25/25).

## 2. PARAMETROS DENDRITICOS

### a) Densidad

Al comparar los grupos experimentales con el grupo control se observaron los siguientes resultados: Decrementos en el círculo 6 (21%), círculo 7 (22%) y círculo 8 (64%) en el grupo 6/25 (Fig. 15), en el grupo desnutrido (25/6) se observaron decrementos en los círculos 2 al 6 de 19%, 30%, 48%, 58%, 62%, 86% y 96%, respectivamente (Fig. 18) y finalmente en el grupo 8/8 encontramos decrementos en los círculos 1 (21%), 2 (18%) y 3 (12%) (Fig. 17).

Cuando se compararon los grupos experimentales se encontraron decrementos significativos ( $p < 0.05$ ) en los círculos 2 (20%) y 3 (13%, ) e incrementos en los círculos 6,7,8 (21%, 26% y 63% respectivamente) en el grupo 8/8 y en el grupo 25/6 decrementos en los círculos del 2 al 8 de ( 22%, 31%, 50%, 54%, 51%, 83% y 90%) cuando se comparan con el grupo experimental 6/25, finalmente la comparación entre el grupos experimental 25/6 con respecto al grupo 8/8 muestra incrementos en los círculos del 3 al 8 de 21%, 55%, 61%, 87% y 96% (Tabla III).

## 3. DENSIDAD DE ESPINAS

### a) Espinas Proximales

Los resultados obtenidos en este parámetro son los siguientes: decrementos del 16% en el grupo 6/25, incrementos del 16% en el grupo 25/6 cuando se comparan con el grupo control, no observándose ninguna diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo experimental 8/8 con respecto al grupo control (Figs. 18, 19 y 20). Entre los grupos experimentales se pudo observar un

## DENSIDAD DENDRITICA

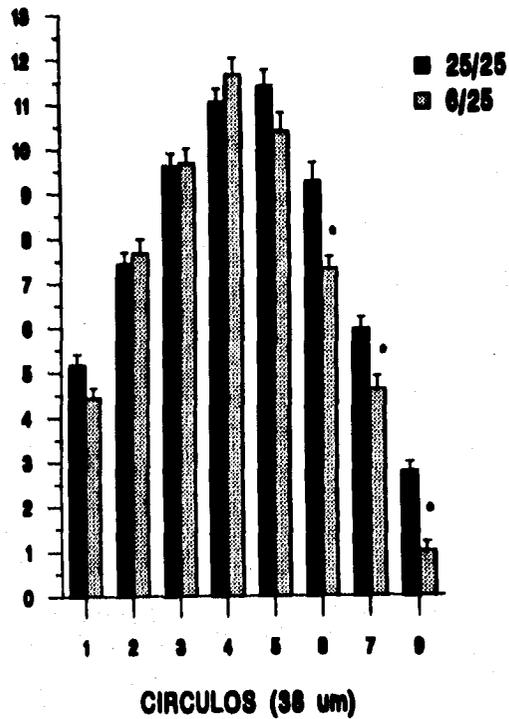


Fig. 15 Efecto de la desnutrición prenatal y la subsecuente rehabilitación nutricional (6/25) en las células granulares del giro dentado de la rata de 30 días de edad, en el número de intersecciones dendríticas a través de 8 círculos concéntricos de  $38\mu\text{m}$  de separación, observándose decrementos significativos ( $*p < 0.05$ ) en los círculos 6, 7 y 8, cuando se compara con el grupo control (25/25).

## DENSIDAD DENDRITICA

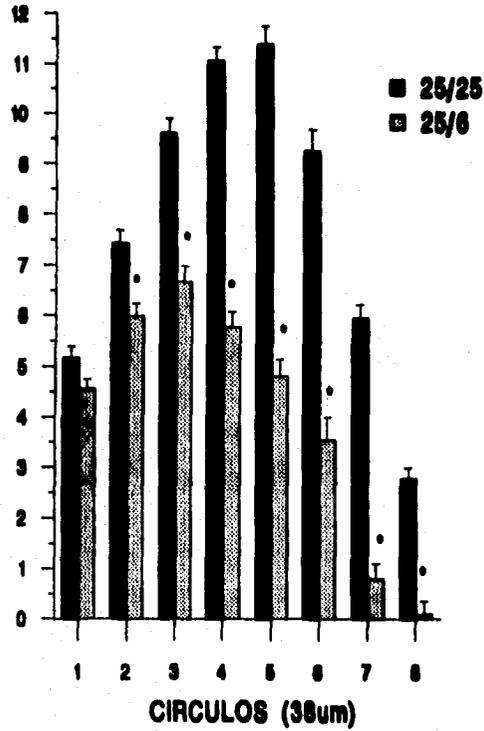


Fig.16 Efectos de la desnutrición postnatal (25/6) en las células granulares del giro dentado de la rata de 30 días de edad, en el número de intersecciones dendríticas a través de 8 círculos concéntricos de 38 µm de separación, observándose decrementos significativos (\*  $p < 0.05$ ) en todos los círculos, excepto en el primero, cuando se compara con el grupo control (25/25).

## DENSIDAD DENDRITICA

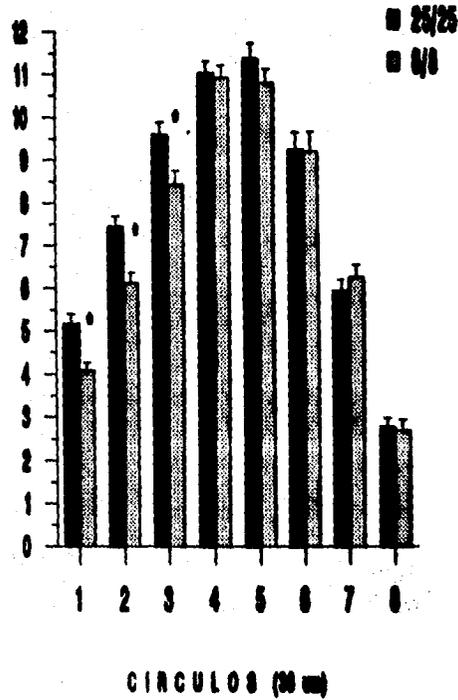


Fig. 17 Efectos de la desnutrición crónica moderada (8/8) en las células granulares del giro dentado de la rata de 30 días de edad, en el número de intersecciones dendríticas a través de 8 círculos concéntricos de 30  $\mu$ m de separación, observándose decrementos significativos (\*  $p < 0.05$ ) en los círculos 1, 2 y 3 cuando se comparan con el grupo control (25/25).

incremento significativo del 30% cuando se compara el grupo 25/6 con respecto al grupo 6/25, además de un incremento del 21% en el grupo 25/6 cuando, se comparó con el grupo 8/8 (Tabla III).

#### ***b) Espinas Mediales***

En este parámetro sólo se observó un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) del (22%) en el grupo 25/6 cuando se comparó con el grupo control (25/25), no se observaron diferencias en los demás grupos experimentales cuando se compararon con este grupo (Fig. 18, 19 y 20).

De las comparaciones realizadas entre los grupos experimentales podemos observar lo siguiente: incrementos del (17%) cuando se comparan el grupo experimental 25/6 con respecto al 6/25, y del 21% en el grupo 25/6 cuando se compara con el grupo 8/8.

#### ***c) Espinas Distales***

Los resultados muestran lo siguiente: decrementos del 17% y del 18% en los grupos 6/25 y 8/8 respectivamente, cuando se comparan con el grupo control, no observándose ninguna diferencia en el grupo 25/6 (Figs. 18, 19 y 20).

En los grupos experimentales encontramos incrementos de 24% y 25% en el grupo 25/6 cuando se compara con los grupos 6/25 y 8/8 respectivamente (Tabla III).

### **4. TOTAL DE ESPINAS**

Los resultados obtenidos al calcular el total de espinas en el segmento medial, con el método de Feldman y Peters fue del 40% sobre el número observado al microscopio, esto quiere decir que solo un 40% del total de espinas dendríticas de las células granulares se observan a través del microscopio.

## No. DE ESPINAS

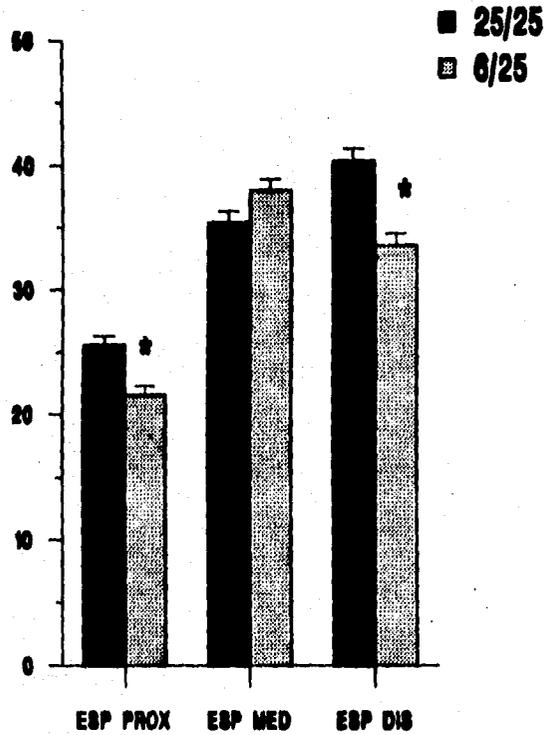


Fig. 18 Efecto de la desnutrición prenatal y la subsecuente rehabilitación nutricional (6/25) en el número de espinas de la dentrita apical más larga de las células granulares del giro dentado en la rata de 30 días de edad. Se observaron decrementos significativos (\*  $p < 0.05$ ) cuando se compara con el grupo control (25/25).

## No. DE ESPINAS

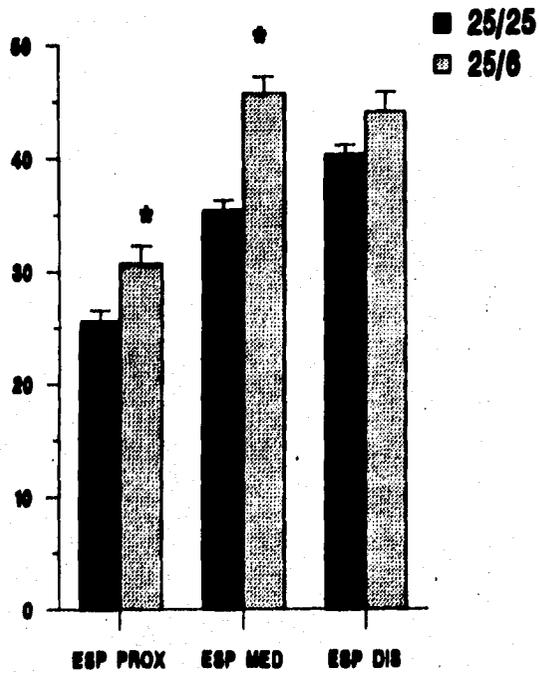


Fig 19 Efecto de la desnutrición postnatal (25/6) en el número de espinas de la dendrita apical más larga en las células granulares del giro dentado de la rata de 30 días de edad. Se observaron incrementos significativos (\*  $p < 0.05$ ) en los segmentos proximal y medial cuando se comparan con el grupo control (25/25).

## No. DE ESPINAS

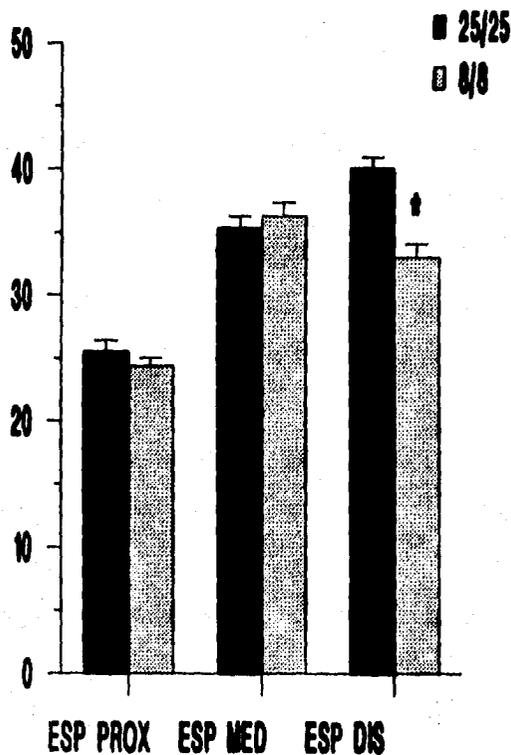


Fig 20 Efecto de la desnutrición crónica moderada (8/8) en el número de espinas dendríticas de la dendrita apical más larga de las células granulares del giro dentado en la rata desnutrida de 30 días de edad observándose decrementos significativos (\*  $p < 0.05$ ) en el segmento distal, cuando se compara con el grupo control (25/25).

## DISCUSIÓN

La desnutrición hipoproteínica instalada en etapas perinatales tiene efectos negativos en el desarrollo del sistema nervioso central. En éste estudio se instalaron tres modelos de desnutrición hipoproteínica (desnutrición prenatal, postnatal y crónica moderada), en animales de 30 días de edad, los resultados indican que existe un importante decremento en el peso corporal en los tres grupos experimentales observándose un decremento mayor en los animales desnutridos postnatalmente, lo que indica que la desnutrición instalada en este momento es más agresiva para el organismo, así mismo al comparar los valores del peso corporal de los animales desnutridos prenatalmente y rehabilitados postnatalmente con el grupo control nos damos cuenta de que el decremento es menor, lo que indica claramente la recuperación del organismo.

Los resultados de el peso cerebral indican decrementos significativos en el grupo desnutrido prenatalmente y rehabilitado postnatalmente, así como también en los animales desnutridos postnatalmente, lo que indica que la desnutrición también afecta el desarrollo del sistema nervioso central, además los valores muestran que la rehabilitación nutricional no es suficiente para revertir los efectos que la desnutrición produce, la desnutrición crónica moderada al parecer no tiene efectos significativos, en lo que respecta a este parámetro, ya que no se observan diferencias significativas. Algunos trabajos realizados previamente muestran los efectos que la desnutrición tiene sobre el peso corporal y cerebral, Fish y Winick (1969) elaboraron un modelo experimental de desnutrición postnatal incrementando el número de la camada

y encontraron aumento de DNA en animales de 14 a 16 días de edad y disminución de este a los 17 días, esto indica que la desnutrición altera la cantidad de células que se producen en el sistema nervioso central, tomando en cuenta que a menor cantidad de DNA menor número de células. El desarrollo de las células granulares se altera por la desnutrición, instalada en los periodos de gestación y lactancia, así en los trabajos de Jordan y cols. (1982) se observa disminución en la densidad de células granulares del giro dentado. Otras células también se afectan por la desnutrición, como son las células gliales que según Robain y Ponsot (1978) instalando desnutrición pre y postnatal observaron decrementos de hasta un 50% en el número de las células gliales. Estos efectos pueden ser consecuencia de una alteración en el ciclo celular, por ejemplo, Lewis y cols. (1979) han demostrado que en animales desnutridos la duración del ciclo celular de las neuronas del giro dentado está incrementado y que tal incremento trae como consecuencia reducción en el número total de células en determinado período de desarrollo postnatal. En conjunto estas reducciones en la densidad tanto de las de células nerviosas, como de las gliales pudieran alterar el tamaño y el peso cerebral, además de otras causas. Por otra parte, la disminución del peso corporal debida a la desnutrición hipoproteínica indica que el organismo obtiene las proteínas que requiere del tejido muscular.

Se sabe que la desnutrición afecta de manera diferente al desarrollo y maduración de las células granulares del giro dentado, ya que sabemos que la máxima generación de células se lleva a cabo durante la etapa postnatal, por lo que se ha tratado de analizar que tipo de desnutrición causa mayores alteraciones en estas células.

Cuando se obtuvieron los valores del eje mayor y menor del soma en los grupos experimentales y se compararon con el grupo control observamos que

en el grupo desnutrido prenatalmente y rehabilitado postnatalmente es donde encontramos alteraciones más severas, así mismo encontramos decrementos únicamente en el eje menor del soma de el grupo desnutrido crónico moderado y ningun cambio en el grupo desnutrido postnatalmente, lo que indica que en este parámetro la desnutrición prenatal es más severa y que la rehabilitación nutricional no es suficiente para revertir los daños, por lo menos a los 30 días de edad.

La desnutrición postnatal no afecta el tamaño del soma a los 30 días de edad lo que hace suponer que este efecto es a largo plazo, como lo indican los trabajos de Cintra y cols. (1990) donde encontraron decrementos significativos en eje mayor y menor del soma de las células granulares del giro dentado en animales adultos de 90 y 220 días desnutridos con 8% de caseína. En relación a estos efectos a largo plazo, la desnutrición prenatal pero con 8% de caseína produce reducciones del tamaño celular tanto del eje mayor como en el menor de las células granulares en animales adultos de 90 y 220 días (Díaz-Cintra y col. 1991) Lo que indica que en este parámetro los daños ocasionados por la desnutrición prenatal no son irreversibles.

Otro parámetro medido fue el de la cuantificación de ramas dendríticas en la cual encontramos decrementos significativos en los segmentos distales de las células granulares (círculos 6, 7 y 8) en el grupo desnutrido prenatalmente. Estos segmentos reciben información del patrón perforante proveniente de la corteza entorrinal. Este mismo efecto, se encontró en el grupo desnutrido posnatalmente, sólo que el número de ramas afectadas incluyó desde la zona de entrada de fibras de asociación, (7 últimos círculos) los decrementos encontrados en promedio fue del 57%. Finalmente en los animales desnutridos crónicos moderado (8/8) mostraron reducción de dendritas en los primeros tres círculos (1, 2 y 3), entrada de fibras comisurales

y del tallo cerebral. Así la desnutrición mostró efectos diferenciales siendo la instalada en etapas postnatales la que produce los efectos más severos en este parámetro.

Al comparar los grupos experimentales entre sí (prueba de Tukey) encontramos diferencias de la densidad de ramas dendríticas cuando se compara el grupo desnutrido crónico moderado con el grupo desnutrido prenatalmente y rehabilitado postnatalmente se observa que existe un incremento en la densidad dendrítica en los círculos 6, 7 y 8, lo que indica que la desnutrición prenatal aunada a una rehabilitación nutricional postnatal es menos agresiva que la desnutrición crónica aun cuando ésta es moderada (8/8).

Los resultados obtenidos indican que probablemente existe una hipotrofia del árbol dendrítico de las células granulares del giro dentado, trayendo como consecuencia alteraciones en las aferencias provenientes de la corteza entorrinal, pudiendo suponer que las células estrelladas de la corteza entorrinal también estén alteradas, ya que es en el primer tercio de el árbol dendrítico donde hacen sinapsis su axones con las células granulares del giro dentado. Además, en esta zona también hacen sinapsis las fibras comisurales provenientes del hipocampo contralateral, por lo que es posible que también se vea alterada esta relación sináptica. Por otra parte, estos resultados también indican que la rehabilitación nutricional instalada al momento del nacimiento no es suficiente para revertir los daños ocasionados por la desnutrición prenatal en la densidad dendrítica.

Existen dos maneras de poder explicar el porque la desnutrición hipoproteínica altera el árbol dendrítico de las células granulares del giro dentado; La primera podría deberse a una hipotrofia del desarrollo de el árbol dendrítico como lo menciona en su trabajo Cragg, (1952) en el cual observó

que en animales desnutridos existían decrementos significativos en la extensión del árbol dendrítico de las células granulares del giro dentado, y la segunda podría deberse al alargamiento del ciclo celular. En relación a esta posibilidad los estudios realizados por Lewis (1975) muestran alteraciones en el proceso de proliferación celular, causados por la deficiencia nutricional, provocando un alargamiento del ciclo de reproducción en las capas germinales, lo cual a su vez produce lentificación de los procesos de maduración de las ramas dendríticas y de las espinas de las células granulares.

Los incrementos significativos obtenidos de la cuantificación de espinas cuando se compararon el grupo experimental 25/6 con el grupo control en los segmentos proximal y distal, se debe a que las ramas dendríticas se encuentran poco desarrolladas y que la longitud de estas es menor, por lo tanto las espinas se encuentran más empaquetadas (Lewis y cols. 1975).

Los resultados obtenidos en las células granulares del giro dentado en las tres condiciones experimentales indican que la desnutrición crónica no afecta de la misma manera que la desnutrición prenatal, así como también los efectos de la desnutrición postnatal no son idénticos, cuando se comparan los diferentes parámetros medidos, un dato importante es que la integridad funcional se ve afectada por la deficiencia en las espinas y ramificaciones en los dos tercios exteriores de la capa molecular del giro dentado sugiriendo una deficiencia en la entrada sináptica al sitio de proyección de la vía perforante para los animales sometidos a estas condiciones experimentales. La proyección de estas células granulares que son las fibras musgosas, también se ve alterada, ésto se ha comprobado en otro trabajo realizado por Granados (1995) quién encontró decrementos significativos en el área ocupada por las fibras musgosas, como resultado de las alteraciones en las células granulares.

Estos trabajos ponen de manifiesto que el primer relevo sináptico se ve alterado por la los tres tipos de desnutrición instalados, pero como las células granulares del giro dentado solamente son el primer relevo de la información que entra al complejo hipocámpico debemos analizar los resultados obtenidos en otros trabajos realizados en los campos CA1 y CA3 del hipocampo para tener una idea clara de lo que pasa en todo el complejo hipocámpico y poder analizar si los otros tipos neuronales también están afectados por estos paradigmas de desnutrición.

En el trabajo de García-Ruiz y cols., (1993) instalando desnutrición hipoproteínica prenatal (6/25) y desnutrición crónica severa (6/6), se observaron alteraciones en las células piramidales de CA3, asimismo en un trabajo realizado recientemente por (Parra, 1995) instalando desnutrición hipoproteínica postnatal (25/6) en células piramidales del campo CA3, observó decrementos significativos en el tamaño del soma, de las ramificaciones basales, de las dendritas apicales y en el número de espinas, estas alteraciones son mucho mayores que las reportadas en animales sometidos a desnutrición prenatal y rehabilitación postnatal. Es oportuno hacer notar que los resultados obtenidos con este paradigma de desnutrición son semejantes a los que se tiene en animales sometidos a una dieta crónica severa (6/6), los resultados de estos trabajos indican que las alteraciones encontradas en las células piramidales del campo CA3 traerán como consecuencia que el segundo relevo del circuito trisináptico también se vea alterado por efectos de la desnutrición, ya que es en éstas células es donde hacen sinapsis las fibras musgosas provenientes de las células granulares del giro dentado.

El tercer relevo del circuito trisináptico lo constituyen las células piramidales de la capa CA1, que también se encuentran alteradas por la desnutrición, esto lo demuestran los trabajos realizados por Aguilar (1995),

quién instaló una desnutrición prenatal observando decrementos significativos, en el tamaño del soma de las células piramidales, reducciones en el tamaño de la dendrita apical, además de el grosor de los estratos *moleculare* y *radiatum* y de la densidad de espinas dendríticas en estos mismos estratos, los resultados indican que dicha alteración en las células piramidales de CA1 modifican la eficiencia sináptica en estas células ya que son las principales receptoras de las fibras colaterales de Schaffer, además es pertinente hacer notar que en este sitio también llegan las fibras del patrón perforante, provenientes de corteza entorrinal, lo que indica que el patrón perforante también se encontrará alterado.

Con el análisis de los resultados obtenidos en los diferentes estudios realizados en el hipocampo, con los cuatro paradigmas de desnutrición utilizados, podemos darnos cuenta que el daño provocado por la desnutrición es diferente para cada elemento neuronal y a su vez para cada parámetro medido, no importando si su generación máxima es en la etapa prenatal o postnatal, la desnutrición afecta a los diferentes elementos neuronales.

Con base en diversos estudios realizados en el hipocampo se ha observado que es una de las estructuras que se encuentran más alteradas por efectos de la desnutrición, lo que trae como consecuencia problemas con la memoria espacial y el aprendizaje, como lo demuestran los trabajos realizados por Tonkiss y cols (1990) en los que se observó que ratas sometidas a una desnutrición prenatal realizan las tareas de aprendizaje de manera más lenta que las de los grupos controles, posteriormente Tonkiss y cols. (1991) en otro tipo de experimentos, observaron alteraciones en el aprendizaje de discriminación visual sólo en los animales adultos mostrando efectos en la conducta a largo plazo, aun cuando estos animales fueron sometidos a una rehabilitación nutricional en el momento del nacimiento.

García-Ruiz M (1994) utilizando ratas desnutridas crónicamente observaron alteraciones en la retención de la información, los resultados indican que las ratas control evitan eficientemente los estímulos nocivos, mientras que las ratas desnutridas crónicamente fueron incapaces de evitarlo, sugiriendo que la desnutrición deteriora la habilidad para aprender.

Los cambios fisiológicos encontrados con la instalación de la desnutrición prenatal en el hipocampo realizados por (Bronzino 1991) demuestran que se encuentra alterada la ontogenia del ritmo teta, además observan incapacidad para establecer y mantener potenciales a largo plazo, esta dificultad fue encontrada por Austin (1986), lo que nos sugiere que un animal aunque se someta a una rehabilitación nutricional no revierte los efectos causados por la desnutrición.

Con la revisión de los trabajos realizados de los efectos morfológicos, fisiológicos y conductuales que causa la desnutrición en el hipocampo podemos decir que es una estructura vulnerable a la desnutrición cuando ésta se instala en la etapa perinatal.

## CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos de los diferentes paradigmas de desnutrición utilizados podemos concluir lo siguiente:

a) Que la desnutrición hipoproteínica instalada en etapas perinatales afecta de manera diferente a las células granulares del giro dentado.

b) La desnutrición prenatal afecta el desarrollo y maduración de las células granulares aun cuando se aplique una rehabilitación nutricional esta no es suficiente para revertir los daños por lo menos a los 30 días de edad.

c) La desnutrición hipoproteínica postnatal es la que causa mayor alteración en las células granulares del giro dentado principalmente a la densidad de las dendritas y de espinas.

d) La desnutrición crónica moderada afecta la maduración de las células granulares, aun cuando estos cambios no son tan drásticos.

e) El daño anatómico ocasionado a las células granulares del giro dentado que es el primer relevo en el circuito trisináptico, indica que la información que llega a estas células desde la corteza entorrinal se encuentra alterada por la desnutrición

Estos resultados aunados a los que se tienen en la literatura, donde se encuentran alteraciones en las células piramidales de los campos CA1 y CA3 podemos suponer que el circuito trisináptico estará afectado en su integridad funcional, trayendo como consecuencia alteraciones en la conducta, memoria espacial y aprendizaje.

## BIBLIOGRAFIA

- Aguilar, A. (1995) Desnutrición prenatal y rehabilitación nutricional de células piramidales del *Comus ammonis* 1 CA1 del hipocampo. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Ahmed, M.G.E., K.S. Bedi, M.A. Warren y M.M. Kamel (1987) Effects of a length period of undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the synapse: granule cell neuron ratio in the rat dentate gyrus. *J Comp. Neurol.* 263:148-158.
- Altman, J. and Das, G.D. (1965). Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J. Comp. Neurol.* 124:319-338.
- Altman, J. (1966). Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. II. A longitudinal investigation of kinetics, migration and transformation old cells incorporating tritiated thymidine in infant rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain region. *J. Comp. Neurol.* 128:431-474.
- Altman, J., Sudarshan, K., Das, G., McCormick, N., and Barnes, D. (1971). The influence of nutrition on neural and behavioral development: III. Development of some motor, particularly locomotor patterns during infancy. *Dev. Psychobiol.* 4 (2): 97-114.
- Altman, J., Brunner, R.L. and Bayer, S.A. (1973). The hippocampus and behavioral maturation. *Behav. Biol.* 8: 557-596.
- Altman, J. y S. A. Bayer (1990) Migration and distribution of two populations of hippocampal granule cell precursors during the perinatal and postnatal periods. *J. Comp. Neurol.* 301:365-381.
- Amaral D.G. (1978) A golgi study of cell type in the hilar region of the hippocampus of the rat. *J. Comp. Neurol.* 182:851-914.
- Amaral, D.G. and Witter, M.P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. 31:571-591.
- Amaral, D.G., Ishizuka N. and Amaral B.B. (1990) Neurons, numbers and the hippocampal network. En J. Storm Mathisen, J. Zimmer y O.P. Ottersen (Eds), *Progress in Brain Research.* Vol. 83. Elsevier Publisher B.V. pp 1-11.
- Andrade, J.P., A. Cadete-Leite, M.D Madeira y M.M. Paula-Barbosa (1991) Long-Term low-protein diet reduces the number of hippocampal mossy fiber synapses. *Exp. Neurol.* 112:119-124.
- Angevine, J. B., Jr. (1970) Critical cellular events in the shaping of neural centers. En: F.O. Schmitt (Ed). *The Neurosciences: Second Study Program*, The Rockefeller Univ. Press, New York, pp.60-72.

-Austin, K., J. Bronzino y P.J. Morgane (1986) Prenatal protein malnutrition affects synaptic potentiation in the dentate gyrus of rats in adulthood. *Developmental Brain Res.* 29: 267-273.

-Barnes, C.A. (1988). Spatial learning and memory processes: The search for their neurobiological mechanism in the rat. *TINS* 11:183-189.

-Bayer, S.A. and Altman, J. (1974) Hippocampal development in the rat: cytogenesis and morphogenesis examined with autoradiography and low-level X- irradiation. *J. Comp. Neurol.* 158:55-80.

-Bedi, K.S. (1991). Effects of undernutrition during early life on granule cell numbers in the rat dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* 311:425-433.

-Benesová O. and Paulik, A. (1984) Experimental study of brain maldevelopment induced by perinatal insults. *Activ. Nerv. Sup. (Praha)*, 26 (3): 220-232.

-Bronzino, J.D., R.J. Austin-LaFrance, P.J. Morgane y J.R. Galler (1991) Effects of prenatal protein malnutrition on Kindling-induced alteration in dentate granule cell-excitability. I. Synaptic transmission measures. *Exp. Neurol.* 112: 208-215.

-Brown, T.S. y P. M. Wallace (1985) Plasticidad del sistema nervioso central: aprendizaje y memoria. En *Psicología fisiológica*. (ed) Interamericana. pp 503-550.

Cajal S. Ramón (1911) *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Two vols. Maloine Paris. pp 733-799.

Chávez, A. (1995). México, un país desnutrido. *Rev. muy interesante*. Mexico D.F. pp 37-39.

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

-Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Galván, A., Kemper, T. and Morgane, P.J. (1980). Effects of protein undernutrition on the dentate gyrus in rat of three age groups. *Brain Research.* 532: 271-277.

-Clos, L., Favre, C., Selme-Matrat, M. and Legrand, J. (1977). Effects of undernutrition on cell formation in the rat brain and specially on composition of the cerebellum. *Brain Research.* 123: 13-26.

-Corkidi, G., (1989). *Système d'analyse de préparations histologiques par imagerie numérique: Histo 2000. Application à l'étude physiopathologique de la maladie de Parkinson*. These de Doctorat, Université Paris, Val de Marne.

-Díaz- Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. and Morgane, P.J.(1981) Nucleus raphe dorsalis: a morphometric Golgi-study in rats of three groups. *Brain Research*, 207:1-16.

- Díaz-Cintra, S. Cintra, L., Galván, A., Aguilar, A., Kemper, T. and Morgane, P.J. (1991). Effects of protein deprivation on postnatal development of granule cells in the fascia dentata, *J. Comp. Neurol.* 310: 356-364.
- Díaz-Cintra, S., y Ortega, N.A. (1991) Histogénesis y morfogénesis en el sistema nervioso central. *Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas.* pp 129-146. México.
- Díaz-Cintra, S., M. García-Ruiz, L. Cintra, y G. Corkidi (1994) Effects of prenatal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of four ages. *Brain Res.* 662:117-126.
- Dobbing, J. (1970). Undernutrition and the developing Brain. In *developmental neurobiology.* Himunch, W. (Eds) 211-261.
- Dobbing, J. and Sands, J. (1971). Vulnerability of development brain. IX. The effect of nutritional growth retardation on the timing of the brain growth-spurt. *Biol. Neonate* 19: 363-378.
- Dobbing, J. and Smart, J.I. (1973). Early undernutrition, brain development and behavior. In: *Ethology and development*, edited by S.A. Barnett, pp. 18-36. Lippincott, Philadelphia.
- Dobbing, J. and Smart, J.L. (1974). Vulnerability of developing brain and behavior. *Brain Med. Bull.* 30: 164-168.
- Feldman, M.L. and Peters, A. (1979). A technique for estimating total spine numbers on Golgi-impregnated dendrites, *J. Comp. Neurol.* 188: 527-542.
- Fish, T. and Winnick, M. (1969). Effect of malnutrition on regional growth of the developing rat brain. *Exp. Neurol.* 25:534-540.
- Frederickson, C.J. y G. Danscher (1990) Zinc-containing neurons in hippocampus and related CNS structures. *Progress. Brain Res.* 83:71-84.
- García-Ruiz, M., S. Díaz-Cintra, L. Cintra y G. Corkidi (1993) Effect of protein malnutrition on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of three ages. *Brain Res.* 625:203-212.
- García-Ruiz M. (1994) Cambios en la citoarquitectura del hipocampo y en la ejecución de una tarea de aprendizaje por efecto de la desnutrición hipoproteínica. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Granados, L. (1995) Efecto de la malnutrición proteínica prenatal y la rehabilitación nutricional postnatal sobre las fibras musgosas de la formación hipocampal. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Jarrard, L. (1993) On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. *Behav. Neural Biol.* 60: 9-26.

- Jordan, T. C., K.F. Howells, N. McNaughton y P.L. Heattie (1982) Effects of early undernutrition on hippocampal development and function. *Res. Exp. Med. Berl.* 160:201-207.
- Katz, H.B., y C.A. Davies (1982) The effect of early-life undernutrition and subsequent environment on morphological parameters of the rat brain. *Behav. Brain Res.* 5:53-64.
- Lewis, P. D., Baláz, R. A. Patell y A. Johnson (1975) The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. *Brain Res.* 83:235-247.
- Lewis, P.D.; Patel, A.J: and R. Balaza (1979). Effect of undernutrition on cell generation in the hippocampus. *Brain Res.* 168:185-189.
- López-Antúnez (1986) Anatomía funcional del sistema nervioso. Trillas Ed. México. pp 573-581.
- Lorente de Nó, R. (1934) Studies on the structure of the cerebral cortex. II continuation of the study of the ammonic system. *J. Psychol. Neurol.* 46:113-177.
- Márquez-Orozco M. (1991) Bases morfológicas y fisiológicas del desarrollo del sistema nervioso. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. pp.73-128.México.
- Morgane, P.J., Miller, M., Kemper, T., Stem, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J. and Kissane, J. (1978). The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat, *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2: 137-230.
- Morgane, P.J., Kemper, T., Cintra, L. and Diaz-Cintra, S. (1982). Out of phase development of dendritic spines in locus coeruleus and nucleus raphe dorsalis in rats of three age groups.
- Parra, L. (1995) Alteraciones neuroanatómicas del hipocampo y de algunos procesos conductuales en ratas sometidas a una dieta hipoproteínica posnatal. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.
- Pasantes Morales, H. (1992) Aminoácidos y aminas biogénicas en el sistema nervioso central: metabolismo y regulación. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. pp.1-14.México.
- Paula-Barbosa, M.M., J.P. Andrade, J.L. Castedo, F.P. Azevedo, I. Camoes, B. Volk y M.A. Tavares (1989) Cell loss in the cerebellum and hippocampal formation of adult rats after long-term low-protein diet. *Exp. Neurol.* 103:186-193.
- Paxinos, G. and Watson C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates.* Academic. Press Australia.
- Robain, o. and Ponsot, G. (1978). Effects of undernutrition on glial maturation. *Brain research* 149: 379-397.
- Salas, M. (1978) Privación neonatal de alimento y desarrollo cerebral: aspectos morfológicos, conductuales y electrofisiológicos. *Bol. Estud. Med. Biol.* 30:11-124.

- Schlessinger, A.R., Cowan, W.H. and Gottlieb, D.I. (1975). An autoradiographic study of the time and the pattern of granule cell migration in the dentate gyrus of the rat. *J. Comp. Neurol.* 159: 149-178.
- Sholl, D.A. (1956). *The organization of the neurons in the cerebral cortex*, Hafner, New York, NY, 1956.
- Sims, A. and Sourander, P. (1976). The effect of pre- and postnatal undernutrition on axonal growth and myelination of central motor fibers. *Acta neuropathologica* 42: 15-18.
- Stewart, C.A. (1971) Weights of various parts of the brain in normal and underfed albino rats at different ages. 511-526.
- Steward O. (1976) Topographic organization of the projections from the entorhinal area to the hippocampal formation of the rat. *J. Comp. Neurol.* 167: 285-314.
- Sugita, M. (1916) 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.
- Swanson, L.W., Sawchenko, P.E. and Cowan, W.M. (1981). Evidence for collateral projection by neurons in Ammon's horn, the dentate gyrus and the subiculum. A multiple retrograde labeling study in the rats. *J. Neurosci.* 1: 548-559.
- Tonkiss, J. y J.R. Galler (1990) Prenatal protein malnutrition and working memory performance in adult rats. *Behav. Brain Res.* 40:95-107.
- Tonkiss, J., G. A. Foster y J. R. Galler (1991) Prenatal protein malnutrition and hippocampal function: partial reinforcement extinction effect. *Brain Res. Bull.* 27:809-813.
- Winick, M. (1970). Nutrition and nerve cell growth. *Federation Proc.* 29:1510-1515.
- Zimmer, J. (1978) Development of the hippocampus and fascia dentata: morphological and histochemical aspects. *Prog. Brain Res.* 48:171-189.