



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA.

“EFECTO DE LA REALIMENTACIÓN, A DIFERENTES ETAPAS DEL DESARROLLO ONTOGENÉTICO DE LA RATA, SOBRE LAS ALTERACIONES PRODUCIDAS POR LA DESNUTRICIÓN EN LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL POTENCIAL DE ACCIÓN COMPUESTO (PAC).”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

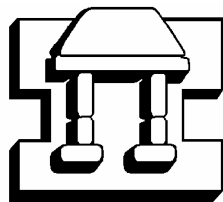
B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

OMAR HERNÁNDEZ GONZÁLEZ.

ASESOR DE TESIS:

DRA. BERTHA SEGURA ALEGRÍA.



IZTACALA

LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MÉXICO.
SEPTIEMBRE 2007.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DEDICATORIA

A Mi Padres: Pedro y Nicolasa, por ser mi guía y modelo a seguir; por sus enseñanzas: de que debo ser el mejor en lo que sea que me dedique, a ser responsable y alentarme a superarme y que yo puedo ser todo lo que desee.

A Mi Hermano Pedro, "El Medico" Por las breves discusiones con respecto a la biología, la fisiología y otros temas y por enseñarme a que debo reconocer mis errores.

Los quiero y los amo son lo mejor que me ha tocado de esta vida y por ellos he logrado este trabajo, para ustedes con aprecio y cariño.

"Un fracaso no es solo eso, si no la invitación a intentarlo de nuevo y hacerlo mejor"

Anónimo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco muy especialmente a la Dra. Bertha Segura Alegría, por su apoyo y confianza brindada a lo largo de este año de trabajo, por su paciencia en las revisiones y las enseñanzas compartidas tanto teóricas como prácticas ya que sin ellas esta tesis no hubiera sido posible. Gracias Doctora por guiarme en la fisiología animal y hacerla mi gran pasión.

Así mismo quiero agradecer al Dr. Ismael Jiménez Estrada por permitirme integrarme al laboratorio y en especial a este proyecto, por su paciencia y ayuda en las revisiones del presente trabajo.

A mi gran amigo el Quím. José Carlos Guadarrama Olmos, por su apoyo brindado en el cuidado, preparación y manejo de los animales para los experimentos además por su amistad proporcionada durante parte de este proceso de desarrollo individual.

A mis sinodales: Dr. Jaime Barral, Dra. Mónica González, Biol. Hugo Castro y al Biol. Antonio Cisneros, por el tiempo dedicado para la revisión y por sus comentarios aportados para mejorar este trabajo.

A la M en C. Celia por bajarme de mi nube cuando más confundido me encontraba además de sus conocimientos compartidos para la realización de esta tesis. Gracias por tu amistad.

A todos mis amigos que me apoyaron durante la carrera y la realización de esta tesis, en especial a: Irais, Norma, Yolo, Gaby, Estela, Mayrel, Araceli, Leo, Max, Jonathan, las Manigüis (Sara y Kika), José Luís, Dennis, Constanza, Andrea, Iván, Edgar, Henry, Christian, Sandra (mi prima), Karina, Laura, Ocadiz, Daniel Octavio, Ofelia, Vania, Vania Lorena, Zuleica, Adriana, Paty, Ruth, Marcela, Sandra, Nancy, Joab, Joel, Reyna, Edith, Rosita, Diana, Soledad, Echeveste, Jazmín, Jesús, Fausto, Ojos bonitos, Maribel, Maru, Abraham, Susana, a mis amigos de cantina (ustedes saben quienes son), los Médicos (Elsa, Alma, Itzel, Bere, Gaby) y a todos aquellos amigos que no se encuentran en esta lista un eterno agradecimiento. Y espero verlos más adelante y estar siempre en contacto.

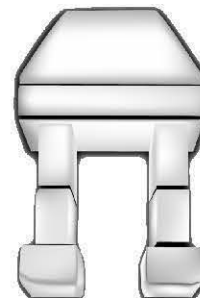
A mis profesores durante la carrera por su apoyo y enseñanzas para contribuir en mi formación como Biólogo.

A mis seres queridos presentes y no presentes gracias por entenderme, comprenderme y cuidarme de que siga en el camino de superarme.

A la UNAM por brindarme los mejores momentos de mi vida y por darme una educación de excelencia.

Por mi raza hablara mi espíritu.

Diler69



ÍNDICE

RESUMEN.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
NERVIOS PERIFÉRICOS.....	8
Propiedades electrofisiológicas de los axones nerviosos periféricos.....	10
Actividad eléctrica de los nervios periféricos.....	14
Desarrollo ontogénico de los nervios periféricos.....	14
<i>Desarrollo del axón: Características generales.....</i>	14
MIELINA: GENERALIDADES Y ONTOGENIA.....	15
ANTECEDENTES.....	17
OBJETIVO GENERAL.....	19
OBJETIVOS PARTICULARES.....	19
METODOLOGÍA.....	20
RESULTADOS.....	23
Peso corporal.....	23
Área máxima.....	25
Área del PAC.....	26
Umbral eléctrico de activación y reobase.....	28
Periodo Refractario Absoluto.....	30
Velocidad de conducción.....	32
DISCUSIÓN.....	34
CONCLUSIONES.....	39
REFERENCIAS.....	40

RESUMEN

En la presente tesis analizamos si la rehabilitación alimenticia aplicada en distintas etapas del desarrollo perinatal de la rata, es capaz de revertir las alteraciones provocadas por la desnutrición sobre la propagación del PAC en el nervio sural. Para ello se utilizaron crías de varios grupos de ratas Wistar: control, desnutrido y re-alimentado a partir de distintas etapas de su desarrollo ontogenético (del destete, del día cero postnatal o de la segunda semana de gestación). A los 8, 16, 30, 60 y 90 días de edad postnatal, las crías de los diferentes grupos fueron pesadas, anestesiadas y se les extrajo un segmento del nervio sural, el cual fue preparado para su estimulación y registro mediante electrodos de succión. La estimulación de los nervios produjo un potencial de acción compuesto (PAC), integrado por la suma de los potenciales de acción individuales de las fibras mielinizadas del grupo A. Se midieron el área del PAC a diferentes intensidades de estimulación, la velocidad de conducción, el periodo refractario absoluto y la reobase.

Los resultados obtenidos muestran que el peso corporal de los animales realimentados a partir de las etapas neonatal y de gestación fue similar al de los animales control entre los 8 y los 30 días de edad; no obstante el último grupo mostró un incremento significativo en este parámetro a los días 60 y 90 de edad; mientras que las crías desnutridas presentaron un peso significativamente menor y los animales realimentados a partir del destete tuvieron una recuperación parcial de su peso corporal. El área del PAC se redujo significativamente (ANOVA, $p < 0.05$) en los nervios de las ratas desnutridas y realimentadas a partir de los días cero y 30 postnatales, mientras que los animales realimentados a partir de la gestación presentaron un área similar a la del grupo control en todas las edades analizadas. Por otra parte la velocidad de conducción se redujo significativamente a los días 30 y 60 postnatales (ANOVA, $p < 0.05$), en los nervios de ratas desnutridas y realimentadas a partir del destete, mientras que los animales rehabilitados a partir de la gestación y del día cero postnatal tuvieron una velocidad de conducción semejante a la de los organismos control en todas las edades registradas.

Estos resultados sugieren que la realimentación de la madre gestante es la única manera de revertir las alteraciones provocadas por la desnutrición sobre las propiedades funcionales del PAC registrado en el nervio sural de la rata en desarrollo, ya que si la rehabilitación alimenticia se inicia en etapas postnatales no se revierten los daños causados por la desnutrición en los nervios sensoriales.

INTRODUCCIÓN

Para que los organismos conserven su integridad anatómica y funcional, es indispensable que éstos reciban un aporte adecuado y suficiente de alimento. Los principales elementos de la dieta son: a) **las proteínas** que proporcionan al organismo los aminoácidos esenciales para su crecimiento, así como para el mantenimiento de su estructura celular y para la construcción y/o reparación de sus sistemas enzimáticos (McLaren 1983; Zambrano y cols; 2005); b) **los carbohidratos**, tienen como función el proporcionar energía al organismo, aunque también participan en la formación de algunas enzimas y de proteínas conjugadas presentes en el cartílago (Hahn, 1979; Winick, 1979; Van Milgen y Noblet, 1999); c) **los lípidos**, son compuestos energéticos que además de contribuir al mantenimiento del almacén de glucógeno en el hígado, están presentes estructuralmente como fosfolípidos en las membranas celulares y en el citoplasma (Herrera y cols; 2005).

La proporción requerida de cada uno de estos nutrientes varía en función de la edad y de la especie animal. Así, por ejemplo, la rata requiere durante su desarrollo embrionario de una mayor cantidad de carbohidratos que de grasas, pero ésta relación se invierte durante la lactancia. En cambio, la ingestión de proteínas es importante en ambas etapas del desarrollo (Hahn, 1979; Van Milgen y Noblet, 1999).

En el caso de que un organismo reciba un aporte insuficiente en cantidad y/o calidad de alguno o de todos los compuestos anteriormente señalados, durante su desarrollo embrionario y/o de lactancia, presentará alteraciones anatómicas, funcionales y conductuales de consideración durante toda su vida (Waterlow y Stephen, 1969; Goldspink y Ward, 1979; Howart, 1972; Lopes y cols; 1982; Russell y cols; 1984a, b; Morgane y cols; 1978, 1993; Van Milgen y Noblet, 1999).

A cualquier forma de alimentación deficiente se le llama **malnutrición**, bajo este concepto se incluyen tanto la deficiencia selectiva de un solo nutriente, como la disminución de dos o más de los nutrientes necesarios para el buen funcionamiento del organismo. Por otra parte, la deficiencia en el aporte de nutrientes mediante una disminución en la cantidad total de calorías proporcionadas al organismo se le denomina **desnutrición**. Ambos tipos de deficiencia alimenticia pueden provocar daños estructurales o funcionales a los diversos órganos y

sistemas que constituyen a un organismo, siendo el sistema nervioso uno de los más afectados (Morgane y cols; 1992; Kumar, 2007).

Las deficiencias nutricionales representan un problema de salud de proporciones mundiales debido a que una alta proporción de la población consume una dieta deficiente, especialmente en los países subdesarrollados, donde la desnutrición se ha asociado con el ambiente de pobreza y con la escasa cultura que priva en estos lugares (Blakburn, 2001). En los países industrializados también se presentan las deficiencias nutricionales antes señaladas, pero en éstos la ingesta inadecuada de alimento está asociada al alcoholismo y/o al consumo de drogas (que impiden la correcta absorción de ciertos nutrientes como las vitaminas); así como a trastornos psiquiátricos alimentarios, como la anorexia nerviosa (Hesse, 1998).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), ha estimado que alrededor de 480 millones de niños en la tierra sufren de desnutrición (Hesse, 1998). En la República Mexicana el 12.7% de la población de niños menores de 5 años padece desnutrición, pero en las zonas rurales esta cifra se eleva al 20% de la población infantil (Rivero y cols, 2006; Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, Ensanut,). La desnutrición prenatal y postnatal temprana, afecta severamente el desarrollo del sistema nervioso, especialmente en niños con bajo peso al nacer. Desafortunadamente, es muy difícil valorar su efecto sobre las funciones del sistema nervioso, debido a la dificultad de separar las variables nutricionales de las condiciones de insalubridad (que provocan infecciones frecuentes) y de deprivación psicosocial (ocasionada por la ignorancia y las condiciones sociales adversas), así como de los factores genéticos y de los contaminantes ambientales (por ejemplo el plomo) que prevalecen en los países pobres (Sigman y cols; 1989; Brown y Pollit, 1996). Por tal razón, numerosos estudios de los efectos provocados por la desnutrición sobre la morfología y/o la función del sistema nervioso han sido efectuados en modelos animales, siendo la rata una de las especies más utilizadas.

La rata albina, *Rattus norvegicus*, es un animal altricial, (al igual que el humano, nace inmaduro y completa su desarrollo en el periodo postnatal temprano), es de fácil manejo y tiene un ciclo de vida corto, lo cual favorece el registro y el análisis de los efectos provocados por diversos tratamientos (en este caso, la deficiencia alimenticia), sobre las características anatómicas y/o las propiedades funcionales de cierto órgano o tejido en las diferentes etapas de la vida del animal.

Por otra parte, es necesario comprender, prevenir, diagnosticar y tratar las patologías derivadas de las deficiencias nutricionales perinatales (Blakburn, 2001). Para lo cual, es necesario no solo desarrollar nuevas tecnologías que permitan incrementar tanto la producción como la calidad de los alimentos, sino también es imprescindible contar con líneas de investigación que permitan establecer con claridad los mecanismos o procesos fundamentales de los organismos que se vean afectados por este padecimiento, así como para establecer los procedimientos clínicos o alimenticios que permitan mitigar o abatir los efectos de la desnutrición.

Existen numerosos reportes sobre los posibles efectos que desencadena la reducción de la ingesta sobre diversos tejidos y órganos, especialmente sobre el sistema nervioso de los organismos (Morgane y cols, 1993; Barros y cols; 2006; Kumar, 2007). Sin embargo y a pesar de que en la literatura especializada existen numerosas evidencias experimentales, de carácter morfológico, fisiológico, bioquímico y/o conductual, acerca de los posibles efectos que produce la desnutrición sobre el sistema nervioso central (Morgane y cols; 1978, 1993; Quirk y cols; 1995; Almeida y cols; 2005), en la actualidad existe una notoria falta de información sobre las posibles alteraciones que desencadena la desnutrición perinatal sobre el desarrollo de las propiedades fisiológicas de nervios periféricos, y tampoco se conoce si la rehabilitación alimenticia, empleada en diferentes etapas del desarrollo de los animales, revierte o mitiga las alteraciones observadas en el sistema nervioso periférico (SNP).

NERVIOS PERIFÉRICOS

El Sistema Nervioso Periférico, esta constituido por nervios, los cuales están conformados por numerosos axones de neuronas sensoriales y motoras cuya función es comunicar, por medio de potenciales de acción a los receptores sensoriales localizados en la piel, en los músculos y en las vísceras, con la medula espinal

Los axones se han clasificado tomando en cuenta sus características histológicas, sus propiedades funcionales o la estructura periférica que inervan:

Histológicamente se pueden clasificar en fibras mielínicas y amielínicas; dependiendo de la presencia o ausencia de mielina respectivamente. En cuanto a la clasificación de la estructura periférica que inervan o de donde se originan, los nervios se dividen en cutáneos o

sensoriales y en musculares o motores; los primeros son aquellos que provienen de receptores situados en la piel o en las vísceras; mientras que los musculares o motores son aquellos cuyos axones provienen de receptores situados en los músculos (por ejemplo: los husos musculares). Además, existen otros parámetros de clasificación que son considerados, por ejemplo el diámetro de las fibras (delgadas o gruesas), la velocidad de conducción y el tipo de información que transmiten. Tomando en consideración los parámetros antes mencionados, las fibras sensoriales se han clasificado en:

- **Fibras del grupo A α** , son fibras mielínicas “gruesas”, cuyo diámetro varía entre 13 y 20 μm . Estas fibras provienen de husos musculares y órganos tendinosos de Golgi localizados en el músculo esquelético. Este tipo de fibras se encuentra exclusivamente en los nervios motores (ver Tabla 1).
- **Fibras del grupo A β** , son fibras mielínicas cuyo diámetro varía entre 6 y 12 μm . Proviene de receptores de tacto fino localizados en la piel y de receptores pilosos, así como de husos musculares secundarios (ver Tabla 1).
- **Fibras del grupo A δ** , poseen un diámetro que varía entre 1 y 5 μm . Proviene de receptores a la temperatura, al tacto grueso y de presión profunda. También conducen el dolor punzante (ver Tabla 1).
- **Fibras del grupo C**, son fibras delgadas cuyo diámetro es menor de 1 μm y no presentan mielina; conducen sensaciones de dolor, picazón, temperatura y tacto grueso (ver Tabla 1).

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

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

Propiedades electrofisiológicas de los axones nerviosos periféricos.

Estrechamente relacionadas con sus características morfológicas, las fibras nerviosas de los grupos antes mencionados, presentan propiedades funcionales que las distinguen entre sí, ya que se trata de elementos neuronales excitables, esto es que tienen la propiedad de generar y transmitir potenciales de acción por toda su longitud. Por tal motivo estos axones poseen diversas propiedades funcionales, algunas de las cuales se describen a continuación:

Umbral eléctrico de activación/ Reobase.- El umbral eléctrico de activación de las fibras nerviosas varía en relación inversa con el diámetro de los axones, de tal manera que las fibras de los grupos A α y A β tienen un umbral de activación considerablemente inferior (entre 10 y 20 veces menor) que el de las fibras C (Guyton y Hall, 2001). Esta propiedad ha sido utilizada en diversos estudios experimentales para activar de manera selectiva a los distintos grupos de axones periféricos. Por otra parte el análisis de la corriente reobase se puede considerar como un mejor índice de la excitabilidad de las fibras nerviosas, pues indica la relación entre intensidad y la duración de un estímulo umbral aplicado a un nervio y permite determinar la mínima intensidad de corriente necesaria para provocar actividad en los axones más excitables del nervio (Noble y Stein, 1966; Aidley 1989), lo cual permite conocer algunas de las propiedades activas y pasivas de los axones mielinizados, así como las alteraciones que estas presentan cuando la mielinización es incompleta o nula (Bostock, 1983). La relación entre la intensidad y la duración de un estímulo umbral es representada gráficamente por una función exponencial decreciente, que fue expresada por Lapicque (1907), con la ecuación;

$$I = I_{rb} / (1 - e^{-t / \tau_{id}})$$

En donde:

- I es la intensidad de la corriente umbral, aplicada durante un tiempo t.
- I_{rb} es la corriente reobase, esto es, la intensidad de corriente que debe tener un estímulo de gran duración a (t \rightarrow ∞), para provocar un potencial de acción.
- t es la duración del estímulo.
- τ_{id} es la constante de tiempo-duración.

Por otra parte Weiss (1901), logro transformar esta función en una línea recta sustituyendo la corriente (I) por la carga (Q). Para efectuar esta transformación Weiss utilizo la formula general;

$$I = dQ/dt$$

En donde $Q = \int I dt$, cuando se estimula con una onda senoidal, o $Q = I \Delta t$, en caso de que la corriente de estimulación sea un pulso cuadrado, tal ecuación establece que la cantidad de cargas (Q) que es necesario aplicar al axón para provocar un potencial de acción depende del tiempo de estimulación (t) y de dos parámetros (a y b), los cuales representan la ordenada al origen y la pendiente de la recta respectivamente, y esta representada por la ecuación:

$$Q = a + bt$$

Donde:

Q es la carga umbral.

t es la duración de estímulo.

a y b son las constantes de la ecuación.

Sin embargo, debido a que en la época en que se propuso la ecuación de Weiss se desconocía la composición de las membranas excitables y aun no se habían propuesto los modelos eléctricos de las mismas, las constantes a y b no pudieron asociarse a ninguno de los elementos presentes en las membranas excitables.

Posteriormente, Bostock (1983) propuso una ecuación para establecer la relación existente entre los parámetros de la ecuación anterior de Weiss con las características de los elementos presentes en las membranas de los axones mielínicos. Este autor mostró que la corriente reobase (I_{rb}) es proporcional a la conductancia de entrada de la fibra. Esto significa que el valor de la reobase depende del incremento inicial en la conductancia al sodio por la aplicación de una corriente despolarizante, y esta representada por la siguiente ecuación;

$$Q = I_{rb} (t + \tau id)$$

En donde:

- Q es la cantidad de cargas que hay que aplicar al axón mielinizado para provocar un potencial de acción.
- I_{rb} es el valor de la corriente reobase, y físicamente representa a la cantidad por unidad de tiempo que activan la generación de un potencial de acción.
- τ_{id} es la constante de tiempo. Gráficamente corresponde al punto de intersección de la recta con el eje de tiempo.
- t es la duración del estímulo.

Utilizando esta ecuación, es factible conocer la corriente reobase y la constante de tiempo, a partir de los valores de la pendiente y el intercepto de la recta con el eje de tiempo, mediante una regresión simple.

- **Velocidad de conducción.**- Otra de las propiedades funcionales de las fibras nerviosas es la velocidad a la que conducen los potenciales de acción, la cual depende de: *A) el grosor del axón*, debido a que las fibras nerviosas más gruesas presentan menor resistencia al flujo longitudinal de corriente, por lo cual la corriente iónica se desplaza más rápidamente a lo largo de una fibra gruesa que de otra de pequeño diámetro. *B) la presencia de vainas de mielina* alrededor del axón, permite incrementar la velocidad de conducción del impulso nervioso (Waxman, 1977; Rogart y Ritchie, 1977; Wilson y Kitchener, 1996; Guyton y Hall, 2001). Las fibras nerviosas mielínicas conducen el potencial de acción a mayor velocidad que las amielínicas debido a que la mielina actúa como un aislante eléctrico que impide la generación del potencial de acción en la membrana axonal, la cual se localiza por debajo de la región internodal, siendo los nodos de Ranvier los únicos sitios en donde se pueden regenerar los impulsos nerviosos, por lo que el potencial de acción se transmite en los axones “saltando” de un nodo de Ranvier a otro (“Conducción saltatoria”; Keynes y Aidley, 1985; Wilson y Kitchener, 1996; Guyton y Hall, 2001). Se ha demostrado experimentalmente que los cambios de potencial registrados en la membrana nodal son el resultado de corrientes iónicas, principalmente de sodio y de potasio, tal y como ocurre en los axones amielínicos (Dodge y Frankenhaeuser, 1958, 1959; Wilson y Kitchener, 1996) y que la velocidad de conducción en los axones mielínicos depende del grosor y del grado de compactación de las vainas de mielina, así como de la longitud del segmento internodal

y de la amplitud del nodo, entre otras características (Waxman, 1977; Rogart y Ritchie, 1977; Guyton y Hall, 2001).

- **Período refractario.**- La capacidad de los axones para generar potenciales de acción a frecuencias relativamente altas depende en gran medida de la capacidad de los mismos para retornar a sus condiciones de membrana en reposo, después de ocurrido un potencial de acción. La repolarización de la membrana axonal se lleva a cabo mediante una bomba metabólica (dependiente de ATP), que incorpora potasio al interior de la fibra y extrae sodio de la misma (Aidley, 1989). Una forma de establecer el grado de repolarización post-potencial en los axones es la determinación de los períodos refractarios absoluto y relativo, lo que a su vez ha sido considerado como una propiedad funcional de las fibras nerviosas.

Actividad eléctrica de los nervios periféricos

La respuesta eléctrica de un nervio, producida por estímulos de intensidad supraumbral, se denomina **potencial de acción compuesto (PAC)**, y es el resultado de la suma de los potenciales de acción generados en cada uno de los axones que constituyen al nervio. Debido a la presencia de fibras nerviosas con diferente umbral de excitación eléctrica y con distinta velocidad de conducción, el registro del PAC de un nervio periférico puede presentar uno o varios componentes. Así, durante el registro del PAC en un nervio sensitivo es factible observar dos componentes: el primero (**componente A**), resulta de la activación de axones con bajo umbral de excitación y posee una latencia de aparición muy breve (Fig. 1). En cambio, el segundo componente (**componente C**), es provocado probablemente por la activación de fibras mielínicas de alto umbral (A $\bar{\delta}$) o por fibras amielínicas (fibras C), por lo que solo se registra cuando el axón es estimulado con pulsos de corriente con intensidad de alrededor de 10 veces la requerida para activar las fibras más excitables del primer componente. El componente C presenta una mayor latencia de aparición, ya que la velocidad de conducción de las fibras A $\bar{\delta}$ o C, es considerablemente menor que la de las fibras A.

Desarrollo ontogénico de los nervios periféricos.

Desarrollo del axón: Características generales

Las neuronas son células altamente polarizadas, tanto estructural como funcionalmente. La polaridad se refleja principalmente por las diferencias morfológicas entre el axón y las dendritas, por ejemplo algunos organelos celulares, tales como los ribosomas y los elementos de Golgi, se encuentran presentes en las dendritas pero no en los axones (Jacobson, 1993). El citoesqueleto también presenta polaridad en su organización ya que se ha encontrado que el extremo grueso de los microtúbulos se encuentra orientado hacia la región de crecimiento axonal, mientras que el extremo más angosto se ubica en el centro del cuerpo celular (Burton y Paige, 1981; Heideman y cols; 1981). La distribución de las especializaciones pre-, y post-sinápticas, que determina la dirección del tráfico de impulsos nerviosos, es otra manifestación de la polaridad neuronal.

Durante su diferenciación y crecimiento la región correspondiente al axón se alarga en una dirección específica desde el soma, hasta establecer contactos sinápticos con los blancos adecuados (Jacobson y Huang, 1985). El crecimiento de los axones hacia sus blancos se inicia gracias a la tendencia intrínseca de alargamiento que presenta una región de las neuronas jóvenes llamada **cono axónico**, el cual interactúa con numerosos factores del medio ambiente que tienen como función la de promover o inhibir el crecimiento del axón.

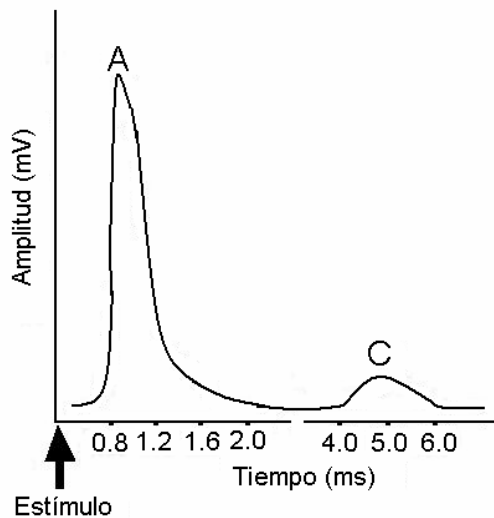


Fig.1. Componentes A y C del potencial de acción compuesto, registrados en el nervio sural de la rata (Modificado de Kandel y cols; 1997).

El cono de crecimiento puede ser estimulado por moléculas, tales como factores de crecimiento que se transportan por difusión a través del medio extracelular y que forman un gradiente de concentración, con un pico cerca del órgano blanco. Aparentemente el cono de crecimiento posee receptores para esas moléculas, las cuales poseen la capacidad de estimular el crecimiento y modificar la dirección del axón en desarrollo. Además las células localizadas en la vía de crecimiento del axón e incluso las células blanco, producen factores de crecimiento que interactúan con el cono de crecimiento axónico, acelerando o inhibiendo el alargamiento del axón (Munro y Crick, 1971; Jacobson, 1993).

MIELINA: GENERALIDADES Y ONTOGENIA

La mielina es una membrana constituida por una bicapa de lípidos, que a diferencia de otras membranas, contiene muy pocas proteínas. La mielina que rodea a cada uno de los axones mielinizados se encuentra formada por células gliales individuales, separadas una de otra por un área sin mielina llamada nodo de Ranvier. La mielina forma capas o lamelas (entre 50 y 100) que recubren a los axones, las que funcionalmente actúan como un aislante eléctrico que impide la transferencia de iones a través de la membrana axonal, ubicada bajo ésta vaina. Los nodos de Ranvier son los únicos sitios de la membrana axonal que están directamente en contacto con el líquido extracelular (Fig. 2).

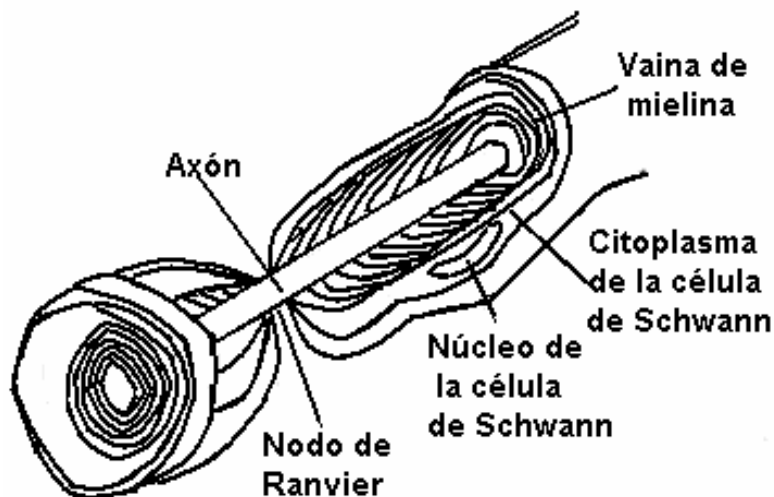


Figura 2. Sección longitudinal de un axón mielinizado. Nótese la vaina de mielina rodeando al axón, así como el citoplasma, el núcleo de la célula de Schwann y el nodo de Ranvier (Modificada de Guyton y Hall, 2001).

En el sistema nervioso periférico la vaina de mielina es formada por las células de Schwann. Durante su desarrollo ontogénico, las células de Schwann derivan de la cresta neural, de donde migran hacia los nervios periféricos (Billings-Gagliard y cols; 1974; Billings-Gagliard, 1977), ya en contacto con los axones nerviosos las células de Schwann empiezan a proliferar, probablemente debido a que interactúan con sustancias producidas por el axón durante su crecimiento (Salzer y cols; 1980; Ratner y cols; 1984).

La longitud inicial de todos los segmentos internodales en los axones mielinizados es constante (de aproximadamente 200 μm). Durante el crecimiento del animal, la longitud internodal se incrementa a medida que el nervio se alarga, pero el número de segmentos internodales no se modifica (Friede, 1973; Friede y cols; 1985). En las fases iniciales del proceso de mielinización, la célula de Schwann rodea al axón dejando un canal (el mesaxón), abierto hacia el espacio extracelular (Jacobson, 1993); entonces una prolongación de la célula de Schwann, semejante a una lengüeta, rodea al axón formando una espiral. Finalmente durante la compactación de la membrana de la célula de Schwann que rodea al axón, el citoplasma es expulsado de la porción internodal, quedando solamente dos collares de citoplasma, uno interno cerca del axón y otro externo en la cercanía del nodo de Ranvier (Jacobson, 1993, Zigmond y cols; 1999). Antes de la formación de las lamelas de mielina, hay un período en el cual se incrementa considerablemente la síntesis de lípidos en la célula de Schwann (Benjamin y Smith, 1984).

Desde el punto de vista fisiológico, se ha reportado un incremento gradual en la velocidad de conducción del potencial de acción compuesto, registrado en el nervio ciático de la rata, durante la primera semana de vida postnatal que ha sido relacionado con la formación de la vaina de mielina (Vabnick y Shrager, 1998). Por otro lado, el aumento en la velocidad de conducción de los axones depende también de las características intrínsecas de la misma vaina de mielina, por ejemplo, se ha reportado que mientras mayor es el grado de compactación de las lamelas de mielina es mayor la velocidad a la que se conduce el impulso nervioso; además señalan que existe una dependencia directa entre la velocidad de conducción del potencial de acción y la longitud del internodo (a mayor longitud internodal, mayor es la velocidad de conducción; Gutierrez y cols; 1995). Por lo anterior, puede suponerse que los procesos de depósito y compactación de mielina en los axones de animales en desarrollo, pueden ser afectados por factores externos adversos, tales como la desnutrición.

ANTECEDENTES

En la actualidad se cuenta con numerosas evidencias que indican las alteraciones que provoca la desnutrición sobre el desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC; ver: Morgane y cols, 1978; 1993; Holz y Schwab, 1997; Vargas y cols; 2000; Montanha-Rojas y cols; 2005). En cambio, es muy escasa la información sobre posible efecto que produce una alimentación perinatal deficiente en calidad o cantidad, sobre el desarrollo postnatal del Sistema Nervioso Periférico (SNP).

Krigman y Hogan en 1976 reportan que el SNC de animales sometidos a desnutrición durante la etapa post-natal, presenta un retraso en el inicio de la mielinización. Posteriormente, Robain y Ponsot (1978), y Lai y Lewis (1980) observaron un retraso en el proceso de diferenciación de la oligodendroglia cerebral. Por otra parte, se ha reportado que la privación neonatal de alimento retrasa el proceso de mielinización en el tracto piramidal (Delaney y cols; 1981) y en el cuerpo calloso (Lai y Lewis, 1980) de la rata en desarrollo. Además las deficiencias alimenticias impiden la expresión de los genes involucrados con la síntesis de mielina (Montanha-Rojas y cols; 2005), lo cual podría asociarse con la disminución reportada en el número de lamelas que rodean a los axones mielinizados de algunas áreas del cerebro y de la médula espinal de la rata (Lai y Lewis, 1980; Delaney y cols; 1981; Vargas y cols; 2000).

En cuanto al SNP, se ha reportado que la restricción de alimento en la etapa perinatal reduce el grosor de la vaina de mielina en fibras del nervio ciático, lo cual podría indicar que el proceso de mielinización es alterado por la desnutrición (Clos y Legrand 1970; Hedley-White y Meuser, 1971; Vargas y cols; 2000). Por otra parte, Sima (1974a) reporta una notoria reducción en el diámetro de los axones del nervio ciático de ratas adultas, cuyas madres fueron alimentadas durante los períodos de gestación y lactancia con la mitad del alimento proporcionado a los animales control. Este mismo autor (Sima, 1974 b) observó en ratas de 90 días, sometidas a desnutrición durante las etapas de gestación y lactancia, que las fibras nerviosas de las raíces dorsales y ventrales mostraban una disminución en su circunferencia y en el número de lamelas de mielina. Sin embargo, los efectos de la desnutrición eran revertidos parcialmente en las raíces ventrales, pero no en las raíces dorsales, sí los animales eran alimentados con la cantidad normal de alimento a partir del día cero post-natal. La evidencia anterior, sugiere que la desnutrición producida durante los períodos de gestación y lactancia (desnutrición perinatal) provoca daños irreversibles en las fibras aferentes, mientras que las fibras eferentes o motoras presentan alteraciones que son parcialmente reversibles, en el caso de someter a los animales a un período de realimentación.

Desde el punto de vista electrofisiológico se ha reportado, que en la rata normal, es posible registrar los componentes de bajo umbral (componente A) y de alto umbral (componente C), desde el día del nacimiento (día cero postnatal), pero la cantidad de fibras que responden a la estimulación, así como la velocidad a la que se conduce el potencial de acción son reducidas a edades tempranas y se incrementan a medida que el animal crece (Fitzgerald, 1985). Por otra parte, en un trabajo previo realizado en nuestro laboratorio, se mostró que la desnutrición perinatal provoca una disminución significativa en la amplitud y el área del componente de bajo umbral, pero no en el componente C, del PAC registrado en el nervio sural de ratas de diferentes edades postnatales (Segura y cols; 2001). Sin embargo, los nervios procedentes de animales desnutridos contenían el mismo número de axones y éstos tenían diámetros semejantes a los de las ratas control, pero el grosor de la vaina de mielina de los axones de animales desnutridos se encontraba significativamente reducido, con respecto a los controles, por lo cual se sugirió que los cambios registrados en la propagación del PAC del nervio sural de ratas desnutridas, podrían ser provocados por alteraciones severas en el desarrollo postnatal de la vaina de mielina, lo cual provocaría el bloqueo o una transmisión intermitente de potenciales de acción en los axones desnutridos (Segura y cols; 2004).

En la rata, el proceso de mielinización se inicia en el último tercio de la gestación y termina alrededor del día 28 postnatal. (Morgane y cols. 1992), por lo cual cabe suponer que si los animales se someten a una rehabilitación alimenticia (pre- o post-natal) las alteraciones provocadas por la desnutrición podrían verse reducidas o prácticamente eliminadas. No obstante, se ha reportado que la rehabilitación alimenticia a partir del día del destete (día 30 postnatal) no revierte el efecto provocado por la desnutrición sobre el área del PAC registrado en el nervio sural de ratas de 60 y 90 días de edad postnatal (Pratz, 2000). Esta observación permite suponer que la desnutrición perinatal detiene el proceso de mielinización o bien, lo retrasa temporalmente. De ocurrir esto último, la realimentación post-destete permitiría la continuación de la formación y/o compactación de las vainas de mielina y los axones recuperarían sus propiedades de conducción del impulso nervioso, lo cual no fue observado en ese estudio. De acuerdo a lo anterior, se podría plantear la hipótesis de que las alteraciones provocadas por la desnutrición sobre el depósito y la compactación de la vaina de mielina podrán ser mitigadas o eliminadas si la rehabilitación alimenticia se efectúa antes de que el proceso de mielinización haya concluido, esto es, durante la gestación o a partir de la etapa postnatal temprana (día cero postnatal).

El presente trabajo forma parte un proyecto de investigación desarrollado en el departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV), en el Laboratorio 8 y 11 a cargo del Dr. Ismael Jiménez Estrada, con el cual se pretenden conocer las alteraciones, tanto morfológicas como funcionales, provocadas por la desnutrición sobre los nervios sensitivos en desarrollo; así como establecer si la rehabilitación alimenticia, iniciada en distintas etapas del desarrollo ontogenético de la rata, permite revertir o mitigar tales alteraciones. Con base en lo anterior los objetivos del presente trabajo son:

OBJETIVO GENERAL

Establecer sí la rehabilitación alimenticia, efectuada en diferentes etapas del período perinatal (a partir de la segunda semana de gestación, el día del nacimiento o el día del destete), mitiga o revierte los efectos provocados por la desnutrición sobre las propiedades funcionales del potencial de acción compuesto (PAC) del nervio sural de ratas en desarrollo (8, 16, 30, 60, 90 días de edad postnatal).

OBJETIVOS PARTICULARES

- A) Establecer sí la realimentación perinatal (a partir de la segunda semana de gestación o el día del nacimiento) revierte o reduce las alteraciones producidas por la desnutrición sobre el potencial de acción compuesto generado por la estimulación supra-umbral del nervio sural de la rata en desarrollo (8, 16, 30, 60, 90 días de edad postnatal).
- B) Establecer sí la realimentación perinatal (a partir de la segunda semana de gestación o el día del nacimiento) revierte o reduce las alteraciones producidas por la desnutrición sobre la velocidad de conducción de las axones del nervio sural de la rata en desarrollo.
- C) Determinar si la realimentación, iniciada en distintas etapas del desarrollo perinatal de la rata, revierte o mitiga las alteraciones provocadas por la desnutrición sobre el umbral del potencial de acción compuesto de nervios cutáneos de animales en desarrollo
- D) Establecer sí la realimentación (a partir de la segunda semana de gestación o el día del nacimiento), reduce o revierte las alteraciones que provoca la desnutrición sobre el período refractario absoluto de las fibras del nervio sural de ratas en desarrollo.
- E) Comparar los resultados obtenidos en este estudio con aquellos observados en animales rehabilitados a partir del destete (día 30 postnatal).

METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se utilizaron ratas hembras adultas (de la cepa Wistar) y sus crías. Los animales fueron proporcionados por el Bioterio General del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV) y se agruparon, al azar, de la siguiente manera:

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

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

Cabe señalar que las propiedades electrofisiológicas de estos grupos (control y desnutrido) fueron reportadas previamente por Gutiérrez (2000) y Pratz (2000), así como por Segura, (2003) y Segura y cols; (2001, 2004).

c) Grupo de Realimentadas a partir del destete; en este grupo las hembras y las crías fueron alimentados bajo el mismo régimen que los grupos de desnutridas, solo que al día del destete (aproximadamente a los 30 días post-natales), se les proporcionó la ración normal de alimento. Cabe mencionar que éste grupo también fue registrado previamente (Pratz, 2000).

d) Grupo de Realimentadas a partir del día cero postnatal; las ratas madre de este grupo fueron alimentadas de la misma manera que el grupo de las desnutridas, solo que ellas y sus crías obtenidas fueron alimentadas *ad libitum* a partir del día del nacimiento (día cero post-natal).

e) Grupo de Realimentadas a partir de la segunda semana de gestación; a las ratas hembras de este grupo se les proporcionó la misma dieta que al grupo de animales desnutridos, pero tuvieron libre acceso al alimento a partir de la segunda semana de gestación.

En todos los grupos, se ajustó a 9 crías por camada desde el día del nacimiento (día cero post-natal) y fueron mantenidas junto a la madre hasta el destete (a los 30 días post-natales), con el objeto de mantener las mismas condiciones de nutrición materna y a partir de ese momento se determinó periódicamente el peso corporal a cada una de las crías, hasta el día que se realizó el experimento agudo.

El registro del potencial de acción compuesto (PAC), se efectuó en las crías de la rata a las edades de 8, 16, 30, 60 y 90 días post-natal. El registro electrofisiológico se realizó en el nervio sural aislado de ambas extremidades posteriores de los 5 grupos, se seleccionó éste nervio debido a que está formado principalmente por axones sensitivos (sin embargo véase

Harrison, 1975; Liguuri y Troborg, 1990), además de ser de fácil acceso para su disección. Al principio del experimento, cada animal fue pesado y anestesiado con hidrato de cloral (400mg/Kg. peso), administrando vía intraperitoneal. El nervio sural de ambas extremidades fue disecado (Fig.3) y colocado en una cámara de registro con solución salina (NaCl 128 mM, KCl 3 mM, NaH₂ PO₄ 0.5 mM, CaCl₂ 1.5 mM, MgSO₄ 1 mM, NaHCO₃ 21 mM, Glucosa 30 mM; en agua desionizada a un pH de 7.45), previamente oxigenada y precalentada a 37°C. Al final de la disección los animales fueron sacrificados mediante dislocación cervical.

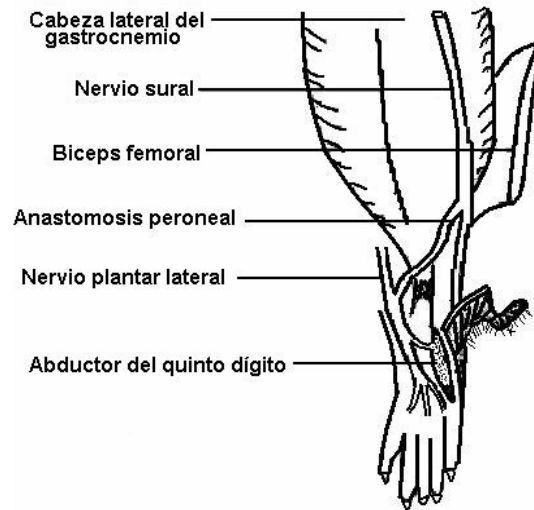


Figura 3.- Localización del nervio sural en la extremidad posterior derecha de la rata. Se señalan, además los músculos y nervios que lo circundan. (Peyronnard y Charron, 1982).

La estimulación eléctrica del nervio se llevó a cabo, introduciendo un extremo de éste a una micropipeta de succión (figura 4), conectada a un generador de pulsos (Digitimer tipo D 4030) con el cual se aplicaron pulsos de corriente de amplitud y duración controlados (2 o 3 veces la intensidad umbral y 0.05 ms de duración). Para el registro del PAC se introdujo el otro extremo del nervio a otra micropipeta de succión (Stys y cols; 1991; Stys, 1993), la cual estaba conectada a un amplificador de alta ganancia (Grass modelo P5), que a su vez estaba conectado a un osciloscopio, Gould DSO 1624 y a una computadora mediante una interfase analógica-digital (Nacional Instruments, modelo BNC 2090), donde se almacenaron los datos para su posterior análisis (cálculo de amplitud y área del PAC). Tanto para el almacenamiento como para el análisis de los datos se utilizó un programa elaborado ex profeso (en ambiente Lab View) para el laboratorio por los M en C. Enrique Velásquez y Porfirio Reyes.

Las sesiones experimentales se realizaron utilizando el protocolo experimental siguiente:

a) Establecimiento del umbral eléctrico (1 X U) de los nervios, como la corriente eléctrica mínima necesaria para activar las fibras más excitables del nervio. La magnitud de la corriente eléctrica de los pulsos de estimulación se determinó al registrar la caída de voltaje obtenida a

través de una resistencia eléctrica de 1000Ω , colocada en el regreso a tierra del sistema de registro (figura 4).

b) Obtención de la respuesta máxima del PAC al incrementar gradualmente la intensidad del estímulo, con múltiplos de la intensidad umbral ($1.2, 1.4, \dots, 3.0 \times U$)

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

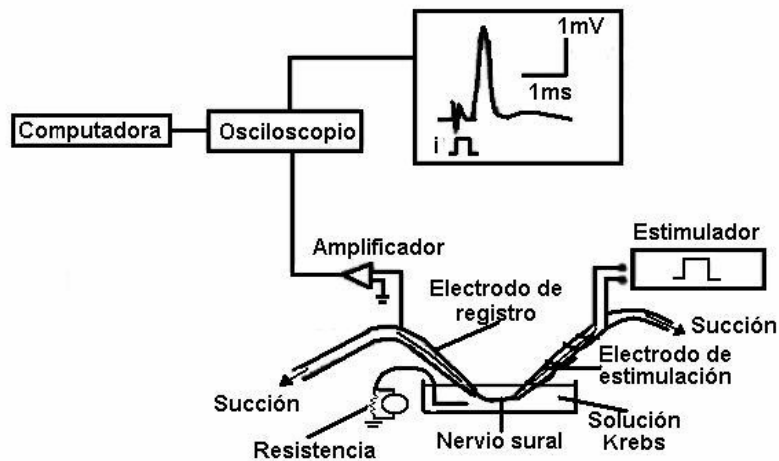


Figura 4.- Sistema de registro del potencial de acción compuesto, en el nervio sural de la rata en desarrollo, por medio de micropipetas de succión. La corriente aplicada al nervio se determinó a partir de la caída de voltaje observada a través de una resistencia eléctrica de 1000Ω , colocada en el retorno a tierra del sistema de registro.

d) Obtención de la relación intensidad-duración, determinando la intensidad de corriente necesaria para producir una respuesta apenas discernible en el nervio, pero utilizando pulsos con distintas duraciones ($0.05, 0.10, 0.20, 0.50$ y 1.00 ms).

e) Cálculo del valor de la reobase a partir de la cantidad de carga eléctrica empleada por unidad de tiempo (dQ/dt), la cual se obtiene de las curvas de intensidad-duración del estímulo (Noble y Stein, 1966; Aidley, 1989).

f) Establecimiento del período refractario absoluto a partir del intervalo de tiempo entre dos estímulos consecutivos (de intensidad supra-umbral), en el cual el segundo estímulo fuese incapaz de generar una respuesta en el nervio.

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante una ANOVA simple, con el objeto de establecer el efecto de la desnutrición y de la realimentación, a diferentes etapas de desarrollo pre- y postnatal, sobre las propiedades fisiológicas del nervio sural. Para efectuar comparaciones pareadas se utilizó la post-prueba de Tukey (McKillup, 2005; Zar, 1974).

RESULTADOS

PESO CORPORAL

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la desnutrición perinatal provocó una reducción significativa (entre el 48 y el 71%) en el peso corporal de los animales con edades de entre 16 y 90 días de edad postnatal; estos resultados concuerdan notoriamente con los reportados en diversos estudios en los que se han empleado distintas técnicas de desnutrición (Sima, 1974 a, b; Krigman y Hogan, 1976; Delaney y cols, 1981; Wiggins, 1982; Quirk y cols, 1995). Por otra parte, las ratas sometidas a rehabilitación alimenticia desde el día de nacimiento, presentaron un peso corporal similar al de los animales control, mientras que los animales realimentados a partir del día del destete (día 30 postnatal) mostraron un ligero incremento en su peso corporal, pero éste siguió siendo significativamente menor al de las ratas control (ANOVA simple; post-prueba de Tukey-Kramer $p < 0.05$). En cambio, las crías cuyas madres fueron realimentadas a partir de la segunda semana de gestación tuvieron pesos similares a los de los animales control desde el nacimiento hasta el día 30 postnatal (destete), pero a los 60 y 90 días de edad mostraron pesos significativamente mayores que los animales control (Figura 5 A y B; cuadro 1).

Nuestros resultados muestran que la rehabilitación alimenticia, iniciada a partir del segundo tercio de la gestación o de la etapa postnatal temprana (día cero postnatal), permite la recuperación del peso corporal de la rata en desarrollo; pero aquellos animales cuyas madres fueron realimentadas a partir de la gestación presentaron una tendencia al sobrepeso en la vida adulta, lo cual ya ha sido reportado por otros autores (Fried y cols; 1983; Schwartz y cols; 2000; Archer y cols; 2002; Levin y Duna-Meynell, 2002), quienes reportan que los animales sometidos a rehabilitación alimenticia presentan sobrepeso. Para explicar tal tendencia al sobrepeso corporal se ha propuesto que la alimentación deficiente o el ayuno prolongado, alteran el circuito de retroalimentación encargado de regular la relación apetito/peso corporal (circuito conformado por los tejidos periféricos y el hipotálamo; Schwartz y cols; 2000), y/o debido a que los animales desnutridos y posteriormente realimentados tienden a acumular grasa y en consecuencia, ser más propensos a presentar obesidad (Fried y cols; 1983; Archer y cols; 2002).

CUADRO 1. Peso corporal de las ratas control (C), desnutridas (D) y realimentadas durante la gestación (RG) y en distintas etapas de su desarrollo post-natal (edades de 0 y 30 días). En cada casilla se presenta el promedio \pm error estándar de 10 animales.

EDAD (días)	PESO CORPORAL (g)				
	C	D	RG	R 0	R 30
8	21.60 \pm 0.56	11.34 \pm 0.35 (**)	17.43 \pm 1.2 (**)	18.39 \pm 0.69 (**)	11.34 \pm 0.35 (**)
16	41.80 \pm 0.66	17.53 \pm 0.72 (**)	33.7 \pm 1.42 (**)	39.31 \pm 1.11 (**)	17.53 \pm 0.72 (**)
30	111.68 \pm 3.24	32.02 \pm 1.84 (**)	99.50 \pm 1.68 (**)	96.65 \pm 2.12 (**)	32.02 \pm 1.84 (**)
60	285.42 \pm 6.00	118.29 \pm 1.86 (**)	356.94 \pm 5.66 (**)	300.59 \pm 11.16 (**)	203.60 \pm 7.75 (**)
90	410.80 \pm 8.03	150.08 \pm 9.1 (**)	456.14 \pm 10.65 (**)	380.21 \pm 14.64 (**)	311.65 \pm 15.75 (**)

Los asteriscos (**) indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$, ANOVA simple), respecto al lote control

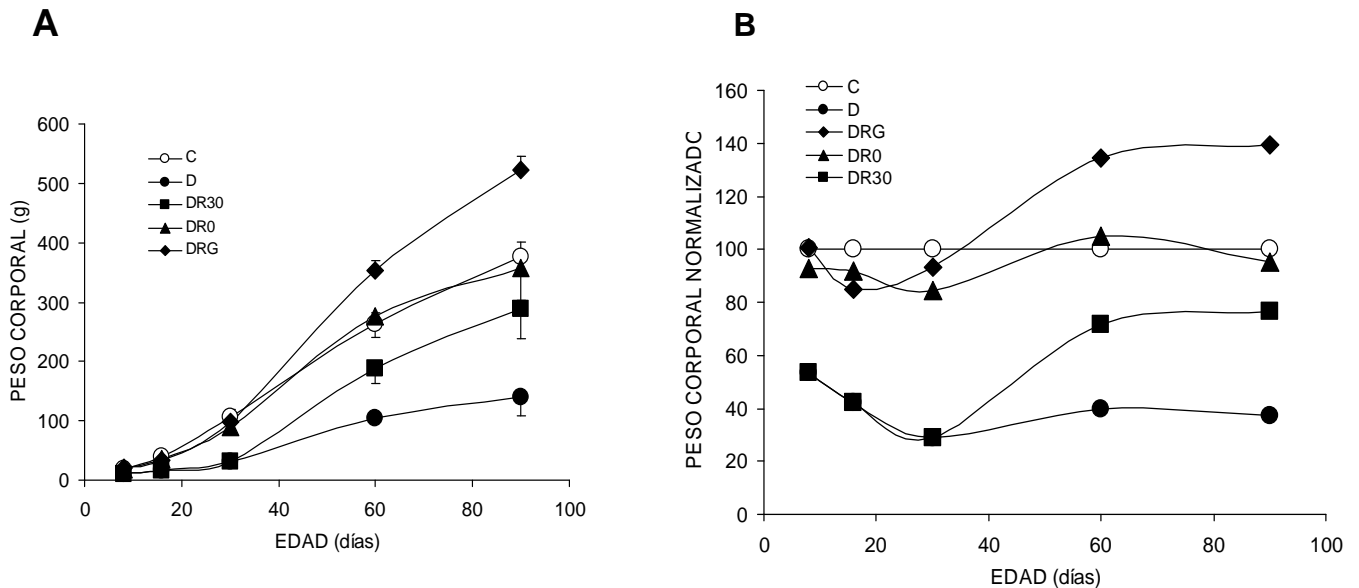


Figura 5. A) Peso corporal de ratas de diferentes edades postnatales sometidas a protocolos distintos de alimentación: C alimentación ad libitum; D desnutrición crónica; DR-30 alimentación ad libitum, de las crías, a partir del día 30 postnatal; DR-0 alimentación ad libitum, de la madre, a partir del día cero postnatal; DR-G alimentación, de la madre, a partir de la segunda semana de gestación. $n = 10$, las barras horizontales representan el error estándar. B) Peso corporal normalizado (porcentaje del peso de los animales tratados respecto al peso de las ratas control), de ratas de diferentes edades y tratamientos

ÁREA MÁXIMA

Con el objeto de establecer si la rehabilitación alimenticia, iniciada en el periodo prenatal o en dos etapas postnatales diferentes, revierte o mitiga las alteraciones provocadas por la desnutrición perinatal sobre las propiedades electrofisiológicas del impulso nervioso, en el presente estudio se utilizaron intensidades supra-umrales de estimulación (2-3xU) para establecer el efecto de los distintos paradigmas alimenticios sobre el PAC. y se analizaron la generación y la transmisión del componente A del PAC registrado en el nervio sural de la rata en desarrollo. Cabe señalar que en un trabajo previo se mostró que la desnutrición peri-natal no provoca alteraciones en el componente C del PAC (Segura y cols, 2001), por lo que en el presente estudio solo se analizó el componente A del potencial de acción compuesto. La aplicación de pulsos únicos de corriente, de intensidad graduada, en un extremo del nervio sural produjo potenciales de acción compuestos (PAC) que se propagaron a lo largo de éste y se registraron en el extremo opuesto del mismo. A medida que se incrementa la intensidad del estímulo (desde una intensidad una vez umbral, -1xU- hasta 4xU; Fig. 6B), el PAC aumenta paulatinamente de amplitud y área hasta alcanzar su máxima respuesta (alrededor de 3xU), en la que la mayoría de los axones capaces de responder a la estimulación eléctrica fueron reclutados. A esta intensidad del estímulo se le considera como supramáxima (Fig. 6 A).

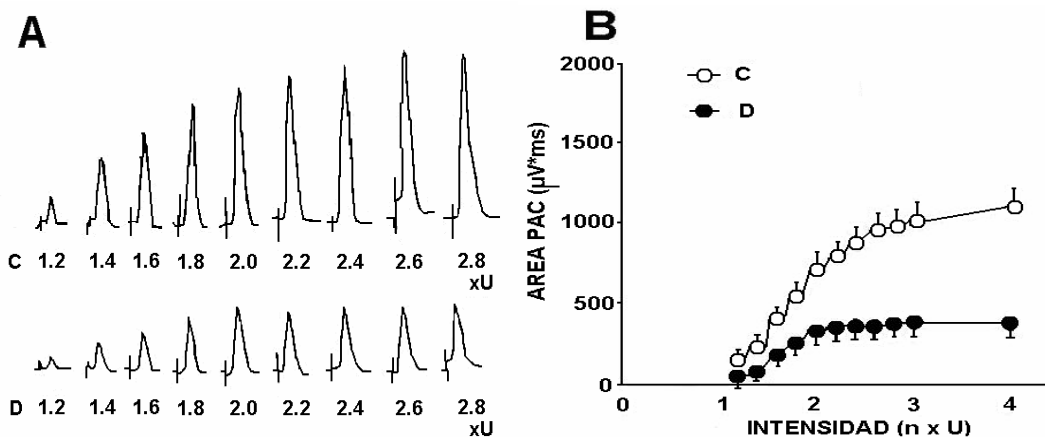


Figura 6. La estimulación con pulsos únicos de intensidad creciente, aumenta la amplitud y el área del PAC registrado en el nervio sural de la rata. A) registros obtenidos al aumentar gradualmente la corriente aplicada al nervio sural de ratas control (C) y desnutridas (D) de 30 días de edad postnatal; B) gráfica que representa el promedio y el error estándar del PAC registrado en el nervio sural de ratas control y desnutridas de 30 días de edad postnatal (n= 10). Nótese la disminución en el área del PAC, provocada por la desnutrición.

ÁREA DEL PAC

La amplitud y el área del PAC registrado en el nervio sural de ratas de 8 y 16 días de edad postnatal presentan una notable similitud en su magnitud en todos los grupos de animales bajo estudio (cuadro 2 y Fig. 7A y B). A partir de la tercera semana y hasta los 90 días de edad postnatal, ambos parámetros incrementan gradualmente de magnitud en los nervios de animales control. Lo anterior es una manifestación de que en el periodo postnatal temprano, los axones que constituyen el nervio sural de la rata incrementan de diámetro, al mismo tiempo que alrededor de ellos es depositada y compactada la mielina por las células de Schwann (Hedley-Whyte y Meuser, 1971; Krigman y Hogan, 1976; Morgane y cols, 1992). Estos cambios morfológicos y estructurales en los axones permiten incrementar su excitabilidad de manera paulatina, permitiendo que a medida que los animales se desarrollan, un número cada vez mayor de ellos respondan a la estimulación supra-umbral, incrementando gradualmente la amplitud y el área del PAC registrado en el nervio sural de la rata en desarrollo.

En cambio, el PAC registrado en los nervios de ratas desnutridas y realimentadas a partir de las edades 0 y 30 días post-natales, presenta un escaso incremento en su amplitud y área, lo cual indica que éstos cuentan con un número menor de axones que generan y/o transmiten potenciales de acción (ANOVA simple, post-prueba de Tukey $p < 0.05$) que los nervios de animales control. Este resultado coincide con las observaciones de Barnett y cols, (1978) y Bartel y cols (1986), para los potenciales provocados en la vía auditiva. Lo anterior nos permite suponer que las dietas hipocalóricas alteran el proceso de maduración de las fibras nerviosas de bajo umbral de activación y también que la rehabilitación alimenticia, iniciada posteriormente a la etapa de gestación, no es capaz de revertir los efectos producidos por la desnutrición sobre la excitabilidad de las fibras nerviosas con mielina. En cambio los animales, cuyas madres fueron sometidas a rehabilitación alimenticia a partir de la segunda semana de gestación, presentaron un PAC con amplitud y área similares a las de los nervios procedentes de ratas control (fig. 7A y B). A partir de este resultado es posible suponer que si la rehabilitación alimenticia coincide temporalmente con los procesos de crecimiento y diferenciación de los nervios sensitivos, éstos presentarán características funcionales semejantes a las de los organismos control.

CUADRO 2. Área máxima del componente A del PAC generado en el nervio sural de crías control (C), desnutridas (D) y realimentadas a partir de diferentes etapas de su desarrollo ontogenético (segunda semana de gestación, DR-G; día cero, DR-0 y destete DR-30). Cada par de valores representan el promedio y el error estándar de 10 nervios.

EDAD (días)	ÁREA MÁXIMA DEL PAC (mV*ms)				
	C	D	DR-G	DR-0	DR-30
8	273.4 ±65.7	359.0±75.1 (NS)	258.8±54.8 (NS)	344.1±64.1 (NS)	359.0±75.1 (NS)
16	609.8±60.1	531.8±114.7 (NS)	586.2±87.0 (NS)	419.5±62.2 (NS)	531.8±114.7 (NS)
30	1261.3±117.7	496.8±60.7 (**)	1041.0±181.0 (NS)	425.3±54.3 (**)	496.8±60.7 (**)
60	1462.4±144.4	607.9±149.9 (**)	1127.5±202.3 (NS)	682.6±121.5 (**)	637.7±124.3 (**)
90	2313.5±206.0	751.1±105.9 (**)	2551.0±226.4 (NS)	796.9±131.1 (**)	798.9±147.8 (**)

Los asteriscos (**) indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA simple; $p < 0.05$), y (NS) indica que no existen diferencias significativas con respecto a los animales control.

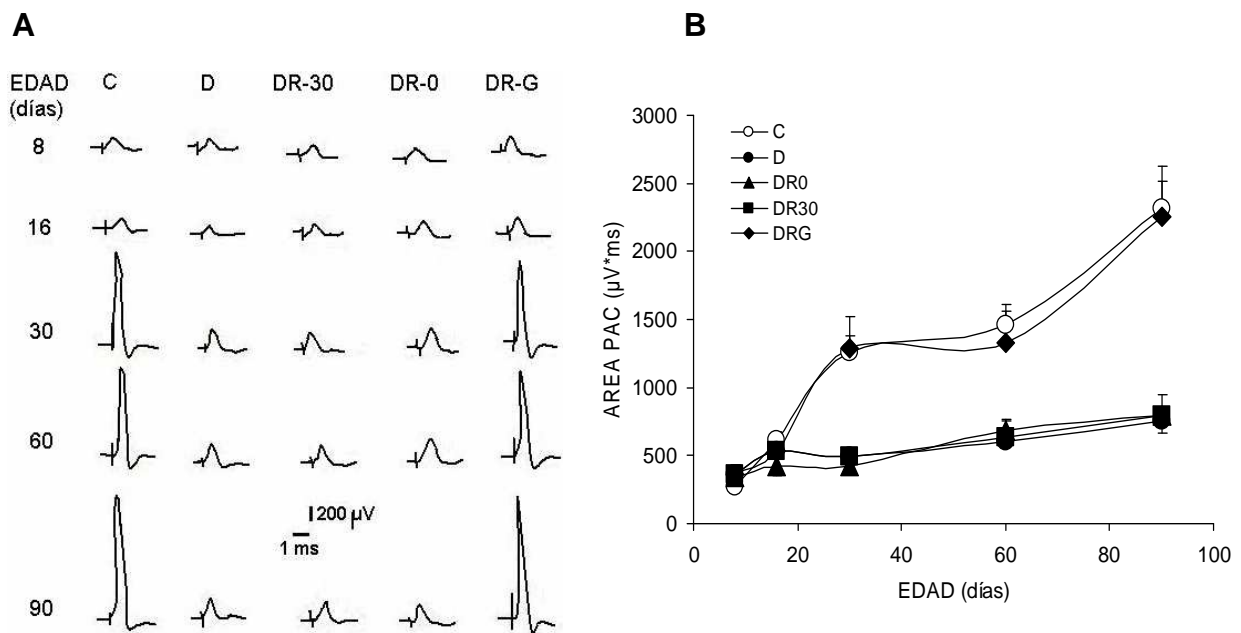


Figura 7. Área del PAC, registrado en el nervio sural de la rata en desarrollo. Panel A, registros obtenidos en animales en desarrollo que fueron sometidos a los distintos paradigmas de alimentación. Panel B, representación gráfica de los promedios obtenidos de 10 nervios por tratamiento y por edad registrada, las líneas verticales representan el error estándar.

UMBRAL ELÉCTRICO DE ACTIVACIÓN Y REOBASE

Como se ha mencionado en el apartado anterior, la reducción en la amplitud y el área del componente A del PAC registrado en el nervio sural de ratas desnutridas y realimentadas en la etapa postnatal (a partir de los días 0 y 30 de edad), podría explicarse suponiendo que los axones de estos animales redujeron su excitabilidad. Por otro lado, tal reducción en la excitabilidad de las fibras nerviosas de ratas desnutridas y realimentadas a partir del periodo postnatal, podría asociarse a un incremento en el umbral eléctrico de activación y/o en el valor de la corriente reobase por tal motivo en el presente trabajo se emplea este parámetro para medir la capacidad de los axones para generar potenciales de acción.

La figura 8 y el cuadro 3, muestran que la corriente reobase del componente A del PAC, de animales desnutridos y realimentados con 8 días de edad postnatal, fue significativamente mayor que la calculada para los nervios de animales control, es decir que se requiere una mayor densidad de corriente para activar las fibras aferentes más excitables de animales experimentales que la utilizada para activar los axones, pero a partir de los 16 días postnatales la reobase es similar para todos los grupos analizados. Esto podría indicar que en edades tempranas, las fibras nerviosas de ratas desnutridas y realimentadas (en cualquier etapa del desarrollo ontogenético), poseen un diámetro inferior al de los axones de animales control o que se ven afectadas las conductancias iónicas y la capacidad de las fibras nerviosas para generar los potenciales de acción (por ejemplo: al reducir el número de canales de sodio por área de membrana axonal; Vabnick y cols., 1996). Pero posteriormente, al menos algunos de estos axones, alcanzan un diámetro y una excitabilidad normales, por lo que generan potenciales de acción con corrientes similares a las requeridas por las fibras nerviosas control. Estos resultados indican que las dietas deficientes en cantidad no reducen la excitabilidad de los axones más excitables, localizados en el nervio sural de la rata en desarrollo, pero no justifican el enorme decremento observado en el área del PAC de los nervios desnutridos y realimentados en el periodo postnatal. Ambos resultados podrían conciliarse suponiendo que numerosos axones presentes en el nervio sural de ratas desnutridas y realimentadas, a partir del día cero postnatal o del destete, presentan fallas en la transmisión o bien conducción intermitente del potencial de acción, por lo cual estos nervios presentaron una disminución en el área del PAC; pero existe un grupo de axones que mantienen inalterada su excitabilidad. Es posible que estos axones, cuya excitabilidad no se altera, también conduzcan adecuadamente el potencial de acción y por lo tanto contribuyan en la generación de la pequeña área del PAC, registrada en estos nervios.

CUADRO 3 Reobase obtenida de las curvas intensidad duración. En cada casilla se presenta el promedio \pm error estándar de 10 animales.

EDAD (días)	REOBASE (μ A)				
	C	D	RG	R 0	R 30
8	20.71 \pm 2.411	56.76 \pm 10.49 (**)	37,75 \pm 6.23 (**)	42.92 \pm 7.37 (**)	56.76 \pm 10.49 (**)
16	8.46 \pm 1.19	15.58 \pm 4.08 (NS)	20,88 \pm 1.48 (NS)	16.72 \pm 2.82 (NS)	15.58 \pm 4.08 (NS)
30	4.62 \pm 0.44	8.28 \pm 0.36 (NS)	9,58 \pm 1.95 (NS)	14.00 \pm 1.77 (NS)	8.28 \pm 0.36 (NS)
60	5.91 \pm 0.78	13.59 \pm 0.75 (NS)	5,41 \pm 0.74 (NS)	8.48 \pm 1.58 (NS)	9.68 \pm 1.72 (NS)
90	4.21 \pm 0.64	7.43 \pm 0.63 (NS)	6,00 \pm 0.72 (NS)	18.28 \pm 2.32 (NS)	8.83 \pm 1.72 (NS)

Los asteriscos (**) indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA simple; $p < 0.05$), y (NS) indica que no existen diferencias significativas con respecto a los animales control.

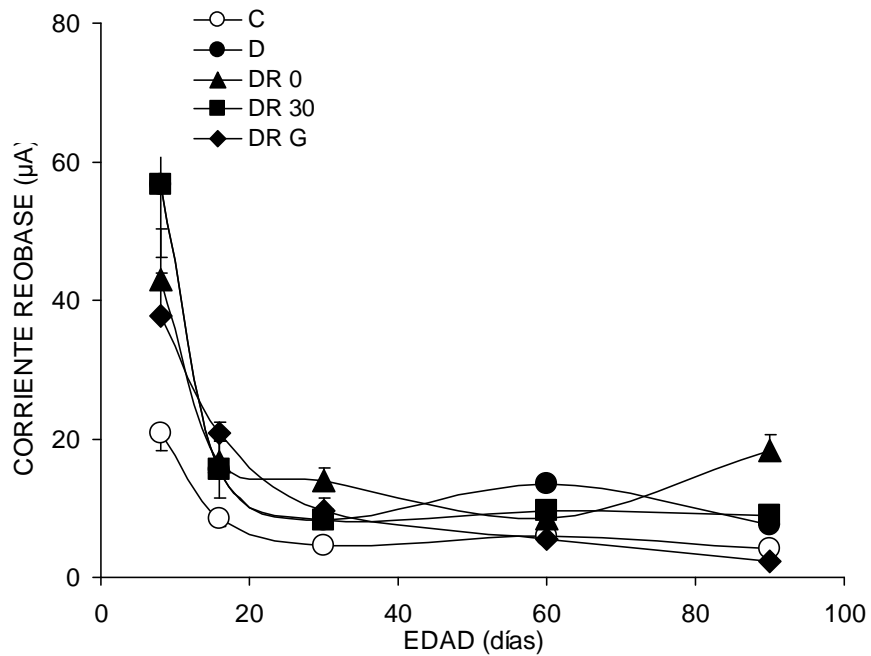


Figura 8. Corriente reobase calculada a partir de las curvas de intensidad- duración, obtenidas para cada nervio sural de ratas de diferentes edades postnatales y que fueron sometidas a diferentes protocolos de alimentación. $n = 10$, las barras horizontales representan el error estándar.

PERIODO REFRACTARIO ABSOLUTO

La capacidad que tienen los axones de producir potenciales de acción en respuesta a la estimulación repetitiva, depende de la capacidad de los mismos para repolarizar su membrana. Ahora bien, la repolarización de la membrana axonal se efectúa con la participación de una bomba metabólica (la bomba de sodio-potasio), por lo que una posible alteración en el funcionamiento de ésta provocaría la incapacidad del axón para responder a trenes de estímulos de alta frecuencia. Por lo anterior, para analizar los posibles efectos provocados por la desnutrición y la realimentación iniciada a diferentes etapas del desarrollo (pre- o post-natal) de la rata, sobre la capacidad de las fibras nerviosas de tipo A para generar dos potenciales de acción (PA) consecutivos, en el presente estudio se determinó el periodo refractario absoluto del componente A del PAC.

En la figura 9 y en el cuadro 4, se muestran los valores promedio del periodo refractario absoluto obtenido, para nervios control y experimentales, mediante la estimulación con pares de pulsos separados por distintos intervalos de tiempo. Estos nos muestran que el periodo refractario absoluto disminuye gradualmente de duración a medida que los animales adquieren mayor edad, siendo más prolongado en edades postnatales muy tempranas y alcanzando su valor de adulto a los 30 días de edad (destete); esta observación concuerda con la realizada por Birren y Wall (1956), quienes muestran un comportamiento similar del periodo refractario absoluto en el nervio ciático de ratas control en desarrollo. Por otra parte encontramos que el periodo refractario absoluto, calculado para nervios de animales desnutridos y realimentados a partir de diferentes edades pre- y post-natales, no difiere significativamente del obtenido para nervios de animales control. Estos resultados, nos permiten suponer que los paradigmas alimenticios utilizados en esta serie de experimentos, no alteran la capacidad de los axones para restablecer las condiciones de excitabilidad, necesarias para generar un segundo potencial de acción. No obstante, debemos tener presente que la proporción de axones que generan y transmiten el par de potenciales de acción al que hacemos referencia en esta sección, es considerablemente menor que la proporción de axones control que responde a la estimulación supra-umbral.

CUADRO 4. Periodo Refractorio Absoluto registrado en el nervio sural de las crías de rata sometidas a diferentes paradigmas de alimentación. En cada casilla se presenta el promedio \pm error estándar de 10 animales.

EDAD (días)	PERIODO REFRACTARIO ABSOLUTO (ms)				
	C	D	RG	R 0	R 30
8	3.96 \pm 0.20	2.99 \pm 0.59 (NS)	2,97 \pm 0.27 (NS)	3.27 \pm 0.23 (NS)	2.99 \pm 0.59 (NS)
16	2.9 \pm 0.16	2.10 \pm 0.27 (NS)	2,13 \pm 0.13 (NS)	1.80 \pm 0.06 (NS)	2.10 \pm 0.27 (NS)
30	1.82 \pm 0.08	1.96 \pm 0.25 (NS)	2,10 \pm 0.10 (NS)	1.44 \pm 0.03 (NS)	1.96 \pm 0.25 (NS)
60	1.67 \pm 0.07	1.62 \pm 0.05 (NS)	2,02 \pm 0.10 (NS)	1.42 \pm 0.07 (NS)	1.82 \pm 0.05 (NS)
90	1.43 \pm 0.02	1.69 \pm 0.06 (NS)	1,71 \pm 0.08 (NS)	1.49 \pm 0.04 (NS)	1.58 \pm 0.07 (NS)

Los (NS) indica que no existen diferencias significativas con respecto a los animales control.

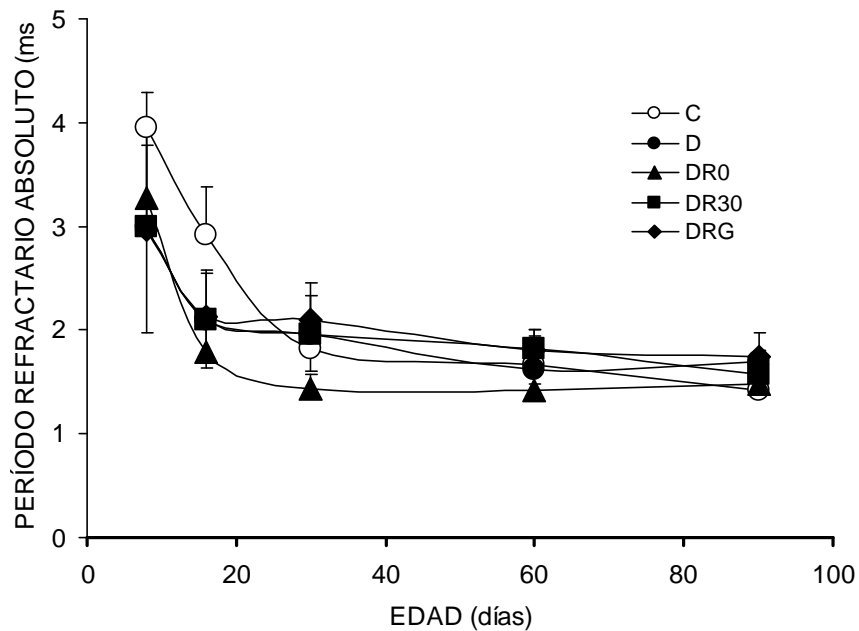


Fig. 10. Periodo refractorio provocado en los nervios sural de ratas de diferentes edades postnatales, que fueron sometidas a diferentes protocolos de alimentación: C alimentación ad libitum; D desnutrición crónica; DR-30 alimentación ad libitum, de las crías, a partir del día 30 postnatal; DR-0 alimentación ad libitum, de la madre, a partir del día cero postnatal; DR-G alimentación, de la madre, a partir de la segunda semana de gestación. $n = 10$, las barras horizontales representan el error estándar.

VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN

La velocidad a la que se conduce el potencial de acción a lo largo de un axón depende tanto de su grosor como de la presencia de una vaina de mielina alrededor de él, por tal razón en el presente trabajo evaluamos la posibilidad de una inadecuada mielinización de los axones, determinando la velocidad de conducción de las fibras aferentes más rápidas, esto es, las que generan el componente A del PAC.

Nuestros resultados muestran que la velocidad de conducción del impulso nervioso aumenta conforme se incrementa la edad de los animales, tanto en las ratas control, como en las desnutridas y las realimentadas a partir de diferentes etapas de su desarrollo perinatal (Fig. 8 y cuadro 3). Esto demuestra que en la rata, el depósito de mielina es un proceso que ocurre postnatalmente y que permite incrementar gradualmente la velocidad de transmisión del PAC (Morgane y cols; 1993). Sin embargo, también encontramos que los nervios de animales desnutridos y realimentados a partir del destete, con edades entre los 30 y los 60 días de edad postnatal, conducen el PAC a una velocidad significativamente menor que los nervios de ratas control; en tanto que los nervios de animales realimentados a partir de la gestación y del día cero postnatal presentaron una velocidad de conducción similar a la del lote control. No obstante, en el día 90 postnatal no se observan diferencias significativas en las velocidades de conducción del PAC provocado en el nervio sural de los animales control, desnutridos y realimentados (tanto a partir de los días 0 y 30 postnatales como de la segunda semana de gestación), lo cual podría indicar que la desnutrición retrasa (pero no impide) el proceso de mielinización de los axones. Sin embargo, tal como en el análisis de la rebase y del periodo refractario absoluto, debe considerarse que esta propuesta es válida solo para aquellas fibras nerviosas que responden a la estimulación eléctrica supra-umbral, sin olvidar que en los nervios desnutridos existe un alto porcentaje de axones que presentan bloqueo o fallas en la propagación del potencial de acción (Segura y cols; 2001, 2004), y que esta deficiencia no es eliminada por la realimentación postnatal.

CUADRO 3. Velocidad de conducción del PAC generado en el nervio sural de ratas sometidas a diferentes paradigmas de alimentación

EDAD (días)	VELOCIDAD DE CONDUCCIÓN DEL PAC (m/s)				
	C	D	DR-G	DR-0	DR-30
8	6.12±0.61	3.86±0.40 (NS)	5.73±0.85 (NS)	6.85±0.87 (NS)	3.86±0.40 (NS)
16	14.9±0.94	12.26±0.70 (NS)	13.28±1.15 (NS)	15.65±1.32 (NS)	12.26±0.70 (NS)
30	18.75±0.76	14.59±0.86 (**)	19.11±1.41 (NS)	19.78±1.62 (NS)	14.59±0.86 (**)
60	32.18±1.23	26.55±2.02 (**)	32.69±0.92 (NS)	34.57±1.23 (NS)	25.27±1.44 (**)
90	35.37±1.23	35.13±1.43 (NS)	38.07±2.78 (NS)	35.14±1.72 (NS)	36.28±2.59 (NS)

Los asteriscos (**) indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA simple; $p < 0.05$) y (NS) indica que no existen diferencias significativas con respecto a los animales control.

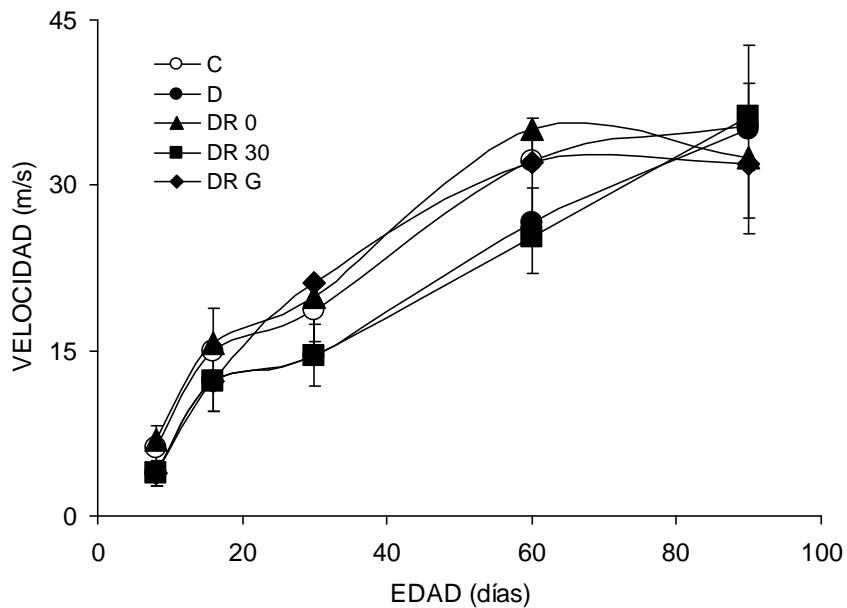


Figura 8. Velocidad de conducción de los nervios de ratas de diferentes edades postnatales, que fueron sometidas a diferentes protocolos de alimentación: C alimentación ad libitum; D desnutrición crónica; DR-30 alimentación ad libitum, de las crías, a partir del día 30 postnatal; DR-0 alimentación ad libitum, de la madre, a partir del día cero postnatal; DR-G alimentación, de la madre, a partir de la segunda semana de gestación. $n = 10$, las barras horizontales representan el error estándar.

En resumen nuestros resultados muestran que la desnutrición reduce la proporción de fibras nerviosas que transmiten el potencial de acción, posiblemente debido a alteraciones en el proceso de mielinización y que la rehabilitación alimenticia iniciada a partir de la segunda semana de gestación es la única manera de revertir dichas alteraciones.

DISCUSIÓN

Estudios previos, relacionados con los efectos provocados por la disminución en la ingesta de alimento sobre el desarrollo de los organismos, han demostrado que la nutrición adecuada de la madre durante la etapa perinatal, provee a las crías, de los elementos que les permitirán desarrollar adecuadamente su masa corporal (Morgane y cols; 1992). En cambio los animales sometidos a restricción alimenticia no cuentan con los suficientes elementos (morfológicos, bioquímicos y/o energéticos) para ello, por lo cual disminuyen de peso corporal. Además, se ha propuesto que la recuperación parcial o total del peso corporal de los animales en desarrollo, depende de la severidad de la desnutrición y del tiempo en que el organismo la padeció, así como de la duración del periodo de realimentación (Jacobson, 1993; Zubiran, 1990). Por lo anterior es de esperarse que las crías, cuyas madres fueron sometidas a rehabilitación alimenticia a partir de la segunda semana de gestación o del día del nacimiento hayan logrado una recuperación total del peso corporal, mientras que aquellas crías realimentadas a partir del día del destete, lograrán solo la recuperación parcial de este parámetro.

Es bien conocido que desde el final de la gestación y hasta el destete (día 30 postnatal), los organismos presentan una fase de crecimiento corporal rápido (McLaren, 1983), que podría asociarse al incremento reportado en la síntesis y acumulación de proteínas musculares (Fiorotto y cols; 2000) en ambas etapas de desarrollo de los organismos. Esto podría explicar que las crías cuyas madres fueron realimentadas a partir del día cero postnatal, alcanzaron un peso similar al de los organismos control. En cambio, las crías de madres alimentadas con dietas deficientes en cantidad hasta el final de la lactancia, tuvieron un peso por debajo de los animales control; posiblemente debido a que éstas no produjeron la cantidad de leche apropiada para aportar a los recién nacidos los elementos necesarios para su desarrollo (Wiggins, 1982).

Por otro lado, los animales cuyas madres fueron sometidas a rehabilitación alimenticia a partir de la segunda semana de gestación presentaron, en su vida adulta, un peso superior al alcanzado por los animales control de edades semejantes. Esta tendencia a incrementar el peso corporal, probablemente se relacione con la alteración sufrida por el circuito de retroalimentación que regula la relación apetito/peso corporal (Schwartz y cols; 2000) o bien, que sea una consecuencia de la propensión a acumular grasas, reportada en los animales

desnutridos o sujetos a un ayuno prolongado. Se ha propuesto que el almacenamiento de grasas es un mecanismo de adaptación, que permite a los organismos alimentados con dietas deficientes el poseer reservas energéticas (Fried y cols; 1983; Archer y cols; 2002; Levin y Dunn-Meynell, 2002); pero también se ha observado que los animales sometidos a desnutrición y que posteriormente son realimentados tienden a acumular grasa y en consecuencia, son más propensos a presentar obesidad (Levin y Keesey; 1998).

En cuanto a las alteraciones producidas por la desnutrición sobre las características electrofisiológicas de los nervios sensoriales de la rata en desarrollo, la observación más notable, en esta serie de observaciones, fue que la amplitud y el área del componente rápido del PAC, se redujo notablemente en los nervios de animales desnutridos. En trabajos previos hemos mostrado que dicha disminución en la amplitud y el área del PAC, no está asociada a una reducción en el número de axones contenidos en los nervios de animales desnutridos, ni a un decremento en el diámetro de los mismos, sino a alteraciones en el proceso de mielinización de los axones que constituyen el nervio sural de animales desnutridos de distintas edades postnatales. Asimismo, hemos relacionado tal disminución en amplitud y área del PAC, con el bloqueo en la conducción y/o con la transmisión intermitente del potencial de acción en la mayoría de los axones de los nervios sensoriales de los animales desnutridos (Segura y cols; 2001, 2004). Lo cual significa que aún cuando la desnutrición, no reduce el número y/o el diámetro de los axones contenidos en los nervios sensitivos de la rata, si provoca que un alto porcentaje de ellos pierda la capacidad de propagar adecuadamente el potencial de acción (Segura y cols; 2004).

También se ha reportado que la rehabilitación alimenticia, iniciada a partir del día del destete (día 30 postnatal), es incapaz de revertir las alteraciones provocadas por la desnutrición sobre las propiedades funcionales del PAC (Pratz, 2000). Para explicar lo anterior, debe recordarse que la disminución, tanto de la amplitud como de la velocidad de conducción del PAC, están relacionadas con alteraciones en el proceso de mielinización de los axones sensitivos y que este proceso, en la rata, termina cerca del día del destete; de manera que el proporcionar a los animales una dieta *ad libitum* a partir del día 30 postnatal, no bastó para que el alto porcentaje de axones dañados continuara o concluyera su proceso de mielinización.

Por otra parte, con la realimentación de la madre a partir del día cero postnatal, casi a la mitad del proceso de mielinización, tampoco fue posible eliminar o al menos reducir las

alteraciones provocadas por la desnutrición sobre la capacidad de los axones para conducir el potencial de acción, lo cual nos permite suponer que el organismo necesita contar con todos los elementos requeridos para efectuar la síntesis y depósito de la vaina de mielina alrededor de las fibras nerviosas, desde el inicio hasta el final de este proceso (últimos días de gestación y la etapa postnatal temprana; Morgane y cols; 1993; Jacobson, 1993, Zigmond y cols; 1999) y que debido a esto, los daños provocados por la desnutrición sobre el proceso de mielinización de los axones sensitivos, son irreversibles aún cuando la rehabilitación alimenticia comience en las etapas tempranas de vida postnatal. Esta idea es fortalecida por la observación de que el nervio sural, de ratas cuyas madres iniciaron el proceso de rehabilitación alimenticia a partir de la segunda semana de gestación (antes que comenzara el depósito y la compactación de la vaina de mielina), tuvieron una respuesta electrofisiológica similar a la de los animales control, por lo que podemos suponer que éstos contaron con los elementos necesarios y suficientes para efectuar adecuadamente el proceso de mielinización. Además, se ha propuesto que en los estadios tempranos de la gestación, la madre (sin importar su condición nutricional), aporta al feto los nutrientes necesarios para su desarrollo; pero al final de esta etapa el estatus nutricional de la madre comienza a afectar el desarrollo de la cría (Chow y Lee, 1964; McLaren, 1983). Lo anterior significa que si las madres se someten a rehabilitación alimenticia a partir del segundo tercio de la gestación, las crías contarán en todo momento con los elementos nutricionales suficientes para lograr un desarrollo morfológico y funcional semejante al de los organismos control. Por otro lado, nuestros resultados también confirman la existencia de periodos críticos (alrededor del día cero postnatal; Morgane y cols; 1978, 1992, 1993), en los que el organismo es capaz de responder a la rehabilitación alimenticia, pero una vez rebasado este breve intervalo de tiempo, la recuperación nutricional resulta ser incapaz de reactivar los sistemas celulares que permiten al animal lograr un adecuado desarrollo (morfológico, funcional y conductual).

Dado que se ha descartado previamente la disminución en el diámetro de los axones de los nervios desnutridos como causa de la reducción encontrada en la velocidad de conducción de los nervios desnutridos, con edades entre 30 y 60 días postnatales, ésta solo pudo ser provocada por alteraciones en la vaina de mielina. Pero a los 90 días de edad postnatal, los nervios de animales control, desnutridos y realimentados a partir de distintas etapas de su desarrollo ontogenético, conducen el PAC a la misma velocidad, lo cual ha permitido sugerir que la desnutrición retrasa, pero no impide el proceso de mielinización (Segura y cols, 2001).

Nuestros resultados también muestran que los animales sometidos a rehabilitación alimenticia en las etapas de gestación o postnatal temprana no presentaron este retraso, lo cual significa que las alteraciones provocadas por la desnutrición sobre el depósito y la compactación de la vaina de mielina pueden prevenirse administrando una dieta balanceada y en cantidad suficiente a la madre gestante y/o a las crías a partir de la etapa neonatal.

Por otra parte, la reobase y el periodo refractario absoluto son propiedades asociadas a las características de la membrana y/o al diámetro de los axones, y no dependen directamente de la presencia o de las características de la vaina de mielina que los rodea (Williamson y Andrews, 2005; Duron y cols; 1984; Duron y Katar-Boidin, 1991). Por tal razón en el presente estudio utilizamos ambos parámetros para establecer si la desnutrición altera la excitabilidad de las fibras nerviosas capaces de responder a la estimulación eléctrica y si la rehabilitación alimenticia podría eliminar o disminuir estas posibles alteraciones.

La carencia de alteraciones en el valor del periodo refractario absoluto nos permite suponer que el diámetro de los axones activados por la estimulación eléctrica supra-umbral es similar en todos los nervios registrados, sin importar el paradigma de alimentación al que fueron sometidos. Además este resultado se relaciona directamente con la observación realizada previamente en nuestro laboratorio, en el sentido de que la desnutrición no modifica el diámetro de los axones contenidos en el nervio sural de la rata en desarrollo (Segura y cols; 2004) y nos permite sugerir que la escasa proporción de axones que son activados por la estimulación supra-umbral, en los nervios de animales desnutridos y realimentados a partir de los días cero y 30 postnatales, presentan características morfológicas y funcionales similares a las de los axones control y reafirma la idea de que la disminución en el área del PAC es ocasionada por el bloqueo o la transmisión intermitente del potencial de acción en las fibras nerviosas aferentes.

Además mostramos que en términos generales, el valor de la corriente reobase tampoco sufre alteraciones en los nervios procedentes de animales desnutridos y realimentados a partir de distintas etapas del desarrollo ontogenético. Este resultado sugiere que la proporción de axones que responden a la estimulación eléctrica en los nervios de animales desnutridos y realimentados, no solo presentan el mismo diámetro que los axones control, sino que las características morfológicas y funcionales de los nodos de Ranvier, no se modifican cuando los animales son sometidos a desnutrición.

En resumen, los resultados obtenidos en esta serie de experimentos nos permiten proponer que la desnutrición provoca la ocurrencia de deficiencias severas en el proceso de mielinización de un número importante de axones aferentes, lo que induce el bloqueo y/o la transmisión intermitente de potenciales de acción en tales fibras nerviosas, lo que a su vez genera la enorme reducción en la amplitud y el área del PAC. Además podemos sugerir la rehabilitación alimenticia de la madre gestante, como la única manera de revertir las alteraciones antes descritas, ya que la realimentación de la madre o de las crías iniciada en el periodo postnatal, no mitigó o eliminó los daños causados por la desnutrición sobre los nervios sensitivos.

CONCLUSIONES

1. La desnutrición redujo significativamente el peso corporal de la rata en desarrollo, pero éste parámetro restableció su valor normal al realimentar a los animales (en cualquier etapa de su desarrollo ontogenético).
2. La desnutrición provocó una reducción en la proporción de axones, presentes en el nervio sural de la rata en desarrollo, que responden a la estimulación eléctrica supra-umbral, lo cual provoca una disminución en la amplitud y el área del PAC.
3. La realimentación iniciada durante la gestación, pero no la iniciada postnatalmente, revierte las alteraciones producidas por la desnutrición perinatal sobre la generación y/o transmisión del potencial de acción en los axones de nervios sensitivos, permitiendo el restablecimiento del área del PAC. Lo anterior permite inferir que para que los axones aferentes puedan alcanzar su desarrollo morfológico y funcional óptimo, es necesario que el organismo reciba un aporte de nutrientes adecuado en calidad y cantidad, durante el periodo gestacional, lo cual es crítico para la maduración del sistema nervioso.
4. La velocidad de conducción del impulso nervioso decreció, solo parcialmente en los animales desnutridos de 30 y 60 días de edad postnatal, lo cual pudo ser provocado por un retraso en el proceso de depósito y compactación de la mielina alrededor de los axones.

REFERENCIAS

1. Aidley, D. J., (1989). *The physiology of excitable cells*. Cambridge University Press. England. p.p. 224-303.
2. Almeida, M. F; Silveira, A. C; Guedes, R. C; Hokoc, J. N. y Martínez, A. M., (2005). Quantitative ultrastructural evidence of myelin malformation in optic nerves of rats submitted to a multideficient diet. *Nutr. Neurosc.* 8:91-99.
3. Archer, Z. A; Rhind, S. M; Findlay, P. A; Kyle C. E; Thomas, L; Marie, M y Adam, C. L., (2002). Contrasting effects of different levels of food intake and adiposity on LH secretion and hypothalamic gene expression in sheep. *Journal of Endocrinology*, Vol 175, Issue 2, 383-393
4. Barnet, A. B; Weiss, I. P. Sotillo, M. V. y Ohrinch, E. S., (1978). Abnormal auditory evoked potentials in early infancy malnutrition. *Science* 20: 450-452.
5. Barros, K. M; Manhaes-de-Castro, R; Lopes-de-Souza, S; Matos, J. R; Deiro, T. C; Cabral-Filho, J. E. y Canon, F., (2006). A regional model (Northeastern Brazil) of unduced mal-nutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. *Nutr. Neurosc.* 9: 99-104.
6. Bartel, P. R; Robinson E; Conradie, J. M. y Prinsloo J. G., (1986). Brainstem auditory evoked responses in severely malnourished children with Kwashiorkor. *Neuropediatrics*, 1791:178-182.
7. Blackburn, G; L., (2001). Pasteur quadrant and malnutrition. *Nature* 409: 397-401.
8. Bostock, H., (1983). Strength-duration relationship for excitation of myelinated nerve: computed dependence on membrane parameters. *J. Physiol* 341: 59-74.
9. Brown, J. L. y Pollit, E., (1996). Malnutrition, poverty and intellectual development. *Scientific American* Feb. 26-31.
10. Bedi, K. S., (1994). Undernutrition of rats during early life does not affect the total number of cortical neurons. *J. Comp. Neurol.* 342: 596 – 602.
11. Benjamin, J. A. y Smith, M. E., (1984). *Metabolism of myelin*. In: Morell, P. (Ed). Myelin. Plenum. New York. Pp. 225-258.
12. Billings-Gagliard, S., (1977). Mode of locomotion of Schwann cells migrating in a vivo. *Am. J. Anat.* 150:73-88.
13. Billings-Gagliard, S; Webster, H de F. y O' Connell, M. F. C., (1974). In vivo and electron microscopic observations on Schwann cell in developing tadpole nerve fibers. *Am. J. Anat.*141: 375-392.

14. Birren, J. E. y Wall, P. D., (1956). Age changes in conduction velocity, refractory period, number of fibres, connective tissue space and blood vessels in sciatic nerve of rats. *The journal of comparative neurology*. 104(1): 1-16.
15. Burton, R. R. y Paige, J. L., (1981). Polarity of axoplasmic microtubules in the olfactory nerve of the frog. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*: 78: 3269-3273.
16. Chow, B. F. y Lee, C. J., (1964). Effect of dietary restriction of pregnant rats of body weight gain of the offspring. *J. Nutr.* 82: 10 – 18.
17. Clos, J. y Legrand, J., (1970). Influence de la deficiencia thyroïdienne et de la sous alimentation sur la croissance et le myélinisation des fibres nerveuses du nerf sciatique chez le jeune rat blanc. Étude au microscope electronique. *Brain Research* 22: 285-297.
18. Delaney, A. J; Samorajsky, T; Fuller, C. N. y Wiggins, R. C., (1981). A morphometric comparison of central and peripheral hypomyelination induced by postnatal undernourishment of rats. *J. Nutr.* 111: 746 – 754.
19. Dodge, F. A. y Frankenhaeuser, B., (1958). Membrane currents in isolated frog nerve fibre under voltage clamp conditions. *J Physiol (Lond.)* 143: 76–90.
20. Dodge, F. A. y Frankenhaeuser, B., (1959). Sodium currents in the myelinated nerve fibre of *Xenopus laevis* investigated with the voltage clamp technique. *J Physiol (Lond.)* 148: 188–200.
21. Duron, B; Bernard J. F. y Le Bars P., (1984). Absolute refractory period of the ulnar nerve motor fibers in the human newborn. *Neurosci Lett.* 9; 45(1):95-8.
22. Duron, B. y Khater-Boidin, J., (1991). Absolute refractory period of human nerve fibres during postnatal myelination. *Int J Dev Neurosci.* 9(1):27-34.
23. Fiorotto, M. L; Davis, T. A. y Reeds, P., (2000). Regulation of myofibrillar protein turnover during maturation in normal and undernourished rat pups. *Am. J. Physiol. Regulatory, Integrative Comp. Physiol;* 278: R845– R854.
24. Fitzgerald, M., (1985). The postnatal development of cutaneous afferent fiber input and receptive field in the rat dorsal horn. *J. Physiology.* 364: 1-18.
25. Fried, S. K; Hill, J. O; Nickel, M. y DiGirolamo, M., (1983). Prolonged effects of fasting-refeeding on rat adipose tissue lipoprotein lipase activity: influence of caloric restriction during refeeding. *J Nutr.* 113(9):1861-1869
26. Friede, R. L; (1973). Mechanism of myelin sheath expansion. *Prog. Brain Res.* 40: 425:436.

27. Friede, R. L; Brzoska, J. y Hartmann, U., (1985). Changes in myelin sheath thickness and internode geometry in the rabbit phrenic nerve during growth. *J. Anat. (Lond)*. 143: 103-113.
28. Goldspink, G. y Ward, P., (1979). Changes in rodent muscle fibre Types during postnatal growth, undernutrition and exercise. *J. Physiol. (Lond)*, 296: 453-469.
29. Gutiérrez, A. L., (2000). *Efecto de la desnutrición sobre el potencial de acción compuesto (PAC) del nervio sural, durante el desarrollo postnatal de la rata (Ratus norvegicus var. Wistar)*. Tesis para obtener la licenciatura en Biología, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.
30. Gutierrez, R; Boison, D; Heineman, O. y Stoffel, W., (1995). Decompactation of central nervous system myelin leads to a reduction of the velocity of action potential in optic nerve. *Neurosc. Letters* 195: 93 – 96.
31. Guyton, C. y Hall, E., (2001). *Tratado de Fisiología Médica*. Mc Graw Hill. 10a Ed.
32. Hahn, P. (1979), *Nutrition and metabolic development in mammals*. In: Human Nutrition, M Winick (Ed.). Plenum Press. U.S.A.
33. Harrison, L. M., (1975). Fiber diameter spectrum of the motor fibers of rat sural nerve. *Exp. Neurol.* 47: 364 – 366.
34. Hedley – Whyte, E. T. y Meuser, C. S., (1971). The effect of under nutrition of myelination of rat sciatic nerve. *Laboratory Investigation*. 24 (2): 156 – 161.
35. Heideman, S; Landers, J. M. y Hamborg, M. A., (1981). Polarity orientation of axonal microtubules. *J. Cell Biol.*91:661-665.
36. Herrera, E.; López-Soldado, I.; Limones, M.; Amusquivar, E. y Ramos, M.P. (2005). Experimental models for studying perinatal lipid metabolism. Long term effects of perinatal undernutrition. *Adv. Exp. Med. Biol.* 569: 95-108.
37. Herrera, E.; López-Soldado, I.; Limones, M.; Amusquivar, E. y Ramos, M.P. (2005). Experimental models for studying perinatal lipid metabolism. Long term effects of perinatal undernutrition. *Adv. Exp. Med. Biol.* 569: 95-108.
38. Hesse, H., (1998). *La desnutrición proteico-calórica y el sistema nervioso. Curso de Desnutrición*. Laboratorio de Neurofisiología, Depto. Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Honduras.
39. Holz, A. y Scwab, M. E., (1997). Developmental expresión of the myelin gene MOBP in the rat nervous system. *J. Neurocytol.* 26: 467-477.
40. Howart, R. E., (1972). Influence of dietary protein on rat skeletal muscle Growth. *J. Nutr.* 102: 37 – 39

41. Jacobson, M., (1993). *Developmental neurobiology*. Plenum Press. New York and London. p.p. 163 – 21.
42. Jacobson, M; y Huang, S., (1985). Neurite outgrowth traced by means of horseradish peroxidase inherited from neuronal ancestral cell in frog embryos. *Dev. Biol.* 110: 102-113.
43. Kandel, E. R; Schwartz, J. H. y Jessell, T. M., (1997). *Principle of neural science*. Appleton and Lang. Norwalk, Connecticut. p.p. 349 – 351.
44. Keynes, A. M. y Aidley, D. J., (1985). *Nerve and Muscle*. Cambridge Univ. Press. Cambridge p.p.1- 10.
45. Krigman, M. B. y Hogan, E. L., (1976). Undernutrition in the developing rat. Effect upon myelination. *Brain Research.* 107: 239 – 255.
46. Kumar, N., (2007). Nutritional neuropathies. *Neurol. Clin.* 25: 209-255.
47. Lai, M. y Lewis, P. D., (1980). Effects of undernutrition on myelination in rat corpus callosum. *J. Comp. Neurol.* 193:973-982.
48. Lapicque, L. (1907). Recherches quantitatives sur l'excitation électrique des nerfs traitée comme une polarisation. *J. Physiol.*, 9: 622-635.
49. Levin, B. E. y Keeseey, R. E., (1998). Defense of differing body weight set points in diet-induced obese and resistant rats. *Am. J. Physiol Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 274: R412-R419.
50. Levin, B. E. y Dunn-Meynell, A. A., (2002). Defense of body depends on dietary composition and palatability in rats with diet-induced obesity. *Am. J. Physiol Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 274: R46-R54.
51. Liguuri, R. y Trojaborg, W., (1990). Are there motor fibers in the sural nerve? *Muscle and Nerve* 13: 12 – 15.
52. Lopes, J; Russell, D. M; Whitwell, B. S. y Jeejeebhoy, K. N., (1982). Skeletal muscle Function in malnutrition. *Amer. J. Clin. Nut.* 36: 602 – 610.
53. McKillup, S., (2005). *Statistics Explained. An Introductory Guide for Life Scientists'* Cambridge University Press.
54. McLaren, D., (1983). *La nutrición y sus trastornos*. El Manual Moderno. México.
55. Montanha-Rojas, E. A; Ferreira, A. A.; Tenorio, F. y Barradas, P. C., (2005). Myelin Basic protein accumulation is impaired in a model of protein deficiency during development. *Nutr. Neurosci.* 8: 49-56.
56. Morgane, P. J; Austin-LaFrance, R. y Bronzino, J., (1992). *Malnutrition and the developing nervous system*. In: Isaacson, R; Jensen, K. Eds. *The vulnerable brain and*

environmental risks, vol. I Malnutrition and hazard assessment. New York: Plenum Press 3-44

57. Morgane, P. J; Austin-LaFrance, R. J; Bronzino, J; Tonkiss, J; Díaz-Cintra, S; Cintra, L; Kemper, T. y Galler, J. R., (1993). Prenatal malnutrition and the development of the brain. *Neurosc. And Biobehav.* 17: 91 – 128.
58. Morgane, P. J; Miller, M; Kemper, T; Stein, W; Forbes, W; Hall, R; Bronzino, J; Kissane, J; Hawrylewicz, E. y Resnick, O., (1978). The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neurosc. And Biobehav. Rev.* 2: 137 – 230.
59. Munro, M. y Crick, F. H. C., (1971). The time needed to set up a gradient: detailed calculations. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 25:439-453.
60. Noble, D. y Stein, R. B., (1966). The threshold conditions velocity and nerve fiber diameter in experimental protein deprivation. *Acta Neuropathol.* 51: 215-221.
61. Peyronnard, J. y Charron, L., (1982). Motor and sensory neurons of the rat sural nerve: a horseradish peroxidase study. *Muscle y Nerve.* 5: 654 – 660.
62. Pratz, T. G., (2000). *Efecto de la Realimentación posdestete sobre las alteraciones producidas por la desnutrición y malnutrición en las propiedades funcionales del Potencial de Acción Compuesto (P.A.C.)* Tesis para obtener la licenciatura en Biología, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.
63. Quirk, G. J; Mejia, W. R; Hesse, H. y Su, H., (1995). Early malnutrition followed by nutritional restoration lowers the conduction velocity and excitability of the corticospinal tract. *Brain research.* 670: 272 – 289.
64. Ratner, N; Glaser, L. y Smith, M. E., (1984). PC12 cells as a source of neurite-derived cell surface mitogen which stimulates Schwann cells division. *J. Cell. Physiol.* 98:1150-1155.
65. Rivero, V. S; Rojas, L; Luna, J. P. y López L. P., (2006). *Encuesta nacional de salud y nutrición.* Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, Morelos, México.
66. Robain, O. y Ponsot, G., (1978). Effects on undernutrition on glial maturation. *Brain Research* 149:379-397.
67. Rogart, R. B. y Ritchie, J. M., (1977). *Physiological basis of conduction in myelinated nerve fibers.* In Morell, P. (Ed.) : Myelin (New York, London: Plenum Press), p.p. 117 – 159
68. Russell, D; Walker, P; Leiter, L; Sima, A; Tanner, W; Mickle, D; Whitwell, J; Marliiss, E. y Jeejeebhoy, K. N., (1984 a). Metabolic and structural changes in skeletal muscle during hypocaloring dieting. *Am. Clin. Nutr.* 39: 503 – 513.

69. Russell, D; Atwood, H; Whittaker, S; Itakura, I; Walker, M; Mickle, D. y Jeejeebhoy, K. N., (1984 b). The effect of fasting and hypocaloric diets on the functional and metabolic characteristics of rat gastrocnemius muscle. *Clin, Science*. 67: 185-194.
70. Salzer, J.L; Williams, A. K; Glaser, L. y Bunge, R. P., (1980) Studies of Schwann cell proliferation: II Characterization of the stimulation and specificity of the response to a neurite membrane fraction. *J. Cell.Biol*, 84:753-766.
71. Schwartz M. W; Woods S. C; Porte D. Jr; Seeley, J. R. y Baskin G. D., (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404:661–671.
72. Segura, B; Guadarrama, J. C; Gutiérrez, A. L.; Merchant, H; Cintra, L. y Jiménez, I., (2001). Effect of perinatal food deficiencies on the compound action potential evoked in sensory nerves of developing rats. *Nutr. Neurosc.* 4: 475 – 488.
73. Segura, B., (2003). *Efectos de la desnutrición y malnutrición sobre la actividad contractil del músculo esquelético y el potencial de acción compuesto de nervios cutáneos en la rata en desarrollo*. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. Instituto de Neurobiología, UNAM.
74. Segura, B; Guadarrama, J; C; Pratz, G; Mercado, V; Merchant, H; Cintra, L. y Jiménez, I., (2004). Conduction failure of action potentials in sensory sural nerves of undernourished rats. *Neurosc. Let.* 354: 181-184
75. Sigman, M; Neumann, C. y Jansen, A. A., (1989) Cognitive abilities of Kenyan children in relation to nutrition, family characteristics and education. *Child Dev* 60(6):1463-74.
76. Sima, A., (1974 a). Studies on fiber size in developing sciatic nerve and spinal roots in normal undernourished and rehabilitated rats. *Acta Physiologica Scandinavica, Supplementum*.406:5- 55.
77. Sima, A., (1974 b). Relation between the number of myelin lamellae and axon circumference in fibers of ventral and dorsal roots and optic nerve in normal, undernourished and rehabilitated rats. *Acta Physiologica Scandinavica, Supplementum*. 410: 1 – 38.
78. Stein, R., (1980). Nerve and Muscle. Membranes cell and systems. Plenum press. USA.
79. Stys, P. K; Ranson, B. R. y Waxman, S. G., (1991). Compound action potential of nerve recorded by suction electrode: a theoretical and experimental analysis. *Brain Res*. 546: 18-32.
80. Stys, P., (1993). *Suction electrode recording from nerves and fiber tracts. A guide for in vitro studies in vertebrate neurobiology*. In Practical electrophysiological methods. H Kettenman y R Grantyn (Eds). Wiley-Liss New York, U.S.A.

81. Vabnick, I. Novakovic S. D., Levinson S. R, Schachner M., Shrager, P. (1996). The clustering of axonal sodium channels during development of the peripheral nervous system. *J. Neurosci.* 16(16): 4914-4922
82. Vabnick, I. y Shrager, P., (1998). Ion channel redistribution and function during development of the myelinated axon. *J. Neurobiol.* 37(1): 80-96.
83. Van Milgen, J. y Noblet, J., (1999). Energy partition in growing pigs: the use of a multivariate model as alternative for the factorial análisis. *J. Anim. Sci.* 77: 2154-2162.
84. Vargas, V.; Vargas, R.; Marquez, G.; Vonasek, E.; Mateu, L.; Luzzati, V. y Borges, J., (2000). Malnutrition and myelin structure: an X-ray scattering study of rat sciatic and optic nerves. *Eur. Biophys. J.* 29: 481-486.
85. Waterlow, J. C. y Stephen, J. M. L., (1969). Enzymes and assessment of protein nutrition. *Proc. Nutr. Soc.* 28: 234-240.
86. Waxman, S. G., (1977). Conduction in myelinated, Unmyelinated, and demyelinated fibers. *Arch. Neurol.* 34: 585 – 589.
87. Weiss, G. (1901). Sur la possibilité de rendre comparables entre eux les appareils servant à l'excitation électrique. *Archs. Ital. Biol.* 35:413-446.
88. Wiggins, R., (1982). Myelin development and nutritional insufficiency. *Brain Res. Rev.* 4: 151 – 175.
89. Wilson, P. y Kitchener, P. D., (1996). Plasticity of cutaneous primary afferent projections to the spinal dorsal horn. *Prog. Neurobiol.* 48: 105 – 129.
90. Williamson R. P. y Andrews B. J., (2005). Localized electrical nerve blocking. *IEEE Trans Biomed Eng;* 52(3):362-70.
91. Willis, W. D. y Cogeshall, R. E., (1978). *Sensory mechanisms of the spinal cord*, New York: Plenum press, p.p.: 9 – 128.
92. Winick, M., (1979). *Human Nutrition.* 1: Nutrition Pre and Postnatal Development. Plenum. Press. New York. Pp 470.
93. Zambrano, E; Martínez-Samayoa, P. M; Bautista, C. J; Deas, M; Guillen, L.; Rodríguez-González, G. L.; Guzmán, C; Larrea, F. y Nathanielsz, P. W., (2005). Sex differences in transgenerational alterations of growth and metabolism in progeny (F2) of female offspring (F1) of rats fed a low protein diet during pregnancy and lactation. *J. Physiol.* 566: 225-236.
94. Zar, J. H., (1974). *Biostatistical Analysis*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. p.p. 121 – 124.

95. Zigmond, M; Bloom, F; Landis, S; Roberts-James y Squire, L., (1999). *Fundamental Neuroscience*. Academic Press. San Diego.
96. Zubiran, S., (1990). *La nutrición y la salud de las madres y niños mexicanos II Pediatría SSA*. Fondo de cultura económica. México. 251-254.