

1 - 1 9 8 5

078032111

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE POSIBLES ALTERACIONES
ESTRUCTURALES PRODUCIDAS POR UNA ALIMENTACION
A BASE DE MAIZ EN ALGUNOS ORGANOS INVOLUCRADOS
EN LA GESTACION DE LA RATA.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A
SILVIA GUADALUPE CERVANTES SANCHEZ
DIRECTOR DE TESIS: M. en C.
CARLOS BEAS ZARATE
GUADALAJARA, JALISCO. 1987

Mi agradecimiento
a la M.enC. Guadalupe Tapia Arizmendi
y al Dr. Alfredo Feria Velasco
quienes me asesoraron en el presente
trabajo de tesis.

Durante la realización
de este trabajo conté con
el apoyo de una beca-tesis
que me fué otorgada por el
C.O.N.A.C.Y.T.

A la M.enC. Alma Rosa del Angel
agradezco su colaboración durante el
desarrollo de esta tesis.

A mis padres:

por haber guiado a sus hijos

por caminos de inquietud intelectual.

A ellos que me han enseñado que

no se sale adelante celebrando triunfos,

sino superando fracasos.

A mis hermanos:

Margarita, Jaime y Humberto

con quienes he disfrutado

esta experiencia de vivir.

A mis compañeros:

Con los que compartí

momentos que jamás olvidaré.

A mis maestros:

Con respeto y gratitud.

I N D I C E:

	PAGS.
I. INTRODUCCION.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
1. Efecto de la desnutrición sobre el desarrollo corporal.	
2. Efecto de la desnutrición sobre el sistema nervioso central (S.N.C.).	
2.1. Sistema hipotálamo-hipofisario.	
2.2. Glándula pineal.	
3. Efecto de la desnutrición sobre las suprarrenales	
4. Efecto de la desnutrición sobre los ovarios y la función gonadal.	
4.1. Relaxina.	
4.2. Periodicidad sexual en la rata.	
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
III. OBJETIVOS.....	17
1. Objetivo general	
2. Objetivos particulares	
IV. HIPOTESIS.....	18
V. MATERIAL Y METODOS.....	19
VI. RESULTADOS.....	24
VII. DISCUSION.....	29
VIII. CONCLUSIONES.....	33
IX. TABLAS Y FIGURAS.....	35
X. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	46

I. INTRODUCCION:

La desnutrición es un grave problema, que afecta no solo a países subdesarrollados, en donde se incluye a México, sino también a países altamente desarrollados como sucede en los Estados Unidos (9).

La desnutrición severa durante la gestación y en etapas tempranas de la vida postnatal está asociada con diversos grados de disfunción cerebral, así como con diversas alteraciones en la estructura celular (9, 14, 21). En adultos, estos cambios involucran deficiencias en la Biología de la Reproducción (7, 10).

La Organización Mundial de la Salud estima que alrededor de la mitad de los niños del mundo están desnutridos ó presentan serias deficiencias nutricionales en la infancia (9).

La nefasta perspectiva de que 300 a 500 millones de niños crezcan con un alto grado de desnutrición, nos conduce a la interesante tarea de examinar el efecto que ejerce la desnutrición proteica ó proteico-calórica en animales de laboratorio, con la finalidad de dilucidar los efectos que tienen esas dietas carenciales sobre el desarrollo normal de los individuos.

Varias especies animales de laboratorio como lo son: monos, ratas, cerdos y gatos, han sido usadas para estudiar la patobiología de la deficiencia de proteínas (1).

El empleo de animales de laboratorio en los modelos de experimentación biológica ha permitido responder a hipótesis que por circunstancias éticas ó técnicas no pueden ser comprobadas en humanos. De esta manera, los cambios morfológicos, bioquímicos y fisiológicos que se producen por malnutrición proteica ó proteico-calórica durante el desarrollo, ha sido el tema principal de un gran número de estudios (9, 10, 11).

II. ANTECEDENTES:

1. EFECTO DE LA DESNUTRICION SOBRE EL DESARROLLO CORPORAL:

Los animales desnutridos prenatalmente ganan menos peso durante la gestación y la lactancia, por lo tanto el peso al nacimiento es menor (2). El peso inicial de las madres es indicador de las reservas proteicas corporales y obviamente un factor importante que influye en los niveles bajos de proteína durante la gestación y bajo peso de las crías al nacimiento. Esto produce disminución de la resistencia a enfermedades ya que la desnutrición provoca descenso en la producción de leche en las madres, con esto el total de calostro disminuye y el resultado final es un bajo nivel de Inmunoglobulinas transferidas por la leche a las crías (3, 4).

La desnutrición producida por ingestión insuficiente de leche materna durante los primeros 23 días de vida extrauterina ocasiona que el peso de las ratas desnutridas sea inferior al 50%, aproximadamente, en comparación con el peso de las ratas normalmente nutridas (5).

Algunos investigadores han demostrado en ratas recién nacidas que la desnutrición fetal da lugar a una disminución importante en el peso del cerebro y del cerebelo (6, 7).

2. EFECTO DE LA DESNUTRICIÓN SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (S.N.C.):

Aunque los factores genéticos influyen sobre el crecimiento y la diferenciación celular del tejido cerebral, se acepta que el desarrollo de este tejido se regula en buena medida por la acción de diversos estímulos del ambiente (5). La fase de mayor vulnerabilidad del S.N.C. se conoce como periodo crítico ó periodo vulnerable, que comprende la fase de lactancia (8), y se ha determinado en varias especies de animales que este periodo dura 20 días, aproximadamente, a partir del nacimiento (9). El factor ambiental que con mayor frecuencia afecta al desarrollo cerebral es la desnutrición que resulta de una dieta deficiente, principalmente en proteínas (9, 10, 11).

Existen evidencias de que el S.N.C. de la rata macho es más vulnerable que la rata hembra a la malnutrición durante etapas tempranas de la vida postnatal (12).

Algunos trabajos muestran en ratas recién nacidas, que la desnutrición fetal da lugar a una disminución en la concentración de proteínas, en la concentración de ácido desoxirribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN), que indican una importante reducción en el número de células del S.N.C. (5, 13).

Además se ha comprobado que estas concentraciones de ADN y ARN no se recuperan en su totalidad a pesar de que sean alimentadas las ratas posteriormente con dietas adecuadas. Es

to sugiere que la desnutrición fetal en la rata produce cambios irreversibles en el metabolismo cerebral (6, 13).

Todo hace suponer que el impacto de la desnutrición se extiende a la etapa postnatal (6), ya que experimentalmente se demostró que cuando la restricción acontece durante la lactancia se afectan en forma cuantitativa e irreversible las células del cerebro en ratas (14).

Otros estudios, llevados a cabo en ratas de laboratorio muestran que la desnutrición durante el periodo crítico del crecimiento cerebral está asociada con varias modificaciones en el comportamiento. Uno de los cambios observados es el incremento de la respuesta emocional a situaciones estresantes, esto indica que existe un incremento en la excitabilidad de estructuras motoras centrales (15).

Además se ha observado que la atención materna de ratas malnutridas hacia sus crías se reduce, y esta relación posee gran influencia en la respuesta emocional de las crías, así como en el proceso de socialización (16).

De los trabajos realizados con el propósito de conocer los efectos de la desnutrición sobre la estructura del cerebro, algunos investigadores establecen que existe una notable reducción en la longitud dendrítica de neuronas de la corteza cerebral y cerebelo (10, 19). La desnutrición produce retardo en la maduración sináptica (20, 21), además de que la corteza cerebral es más delgada, en el cerebelo existe una reducción de

las células granulares (esta reducción depende de la severidad de la desnutrición) y la proporción de mielina en axones del nervio óptico es notablemente menor comparada con ratas bien alimentadas, existen evidencias de que éste efecto es irreversible (9).

2.1 SISTEMA HIPOTALAMO-HIPOFISARIO:

La adenohipófisis está formada por tres regiones anatómicas: la pars tuberalis, la pars intermedia y la pars distalis. Esta última región segrega seis hormonas, cuatro de ellas tróficas, implicadas en la regulación de otras glándulas, a las cuales están unidas por medio de retroalimentación negativa:

1) Tirotropina (hormona estimulante del tiroides) TSH, actúa sobre el tiroides, 2) Adrenocorticotropina (corticotropina ú hormona adrenocorticotrópica) ACTH, actúa sobre el tejido adrenocortical de la glándula suprarrenal, 3) Hormona foliculo estimulante FSH y 4) Hormona luteinizante, ambas son gonadotropinas. 5) Somatotropina (hormona del crecimiento) GH y 6) Prolactina (hormona luteotrópica, lactógena, mamotrópica) LTH. Estas dos últimas no intervienen en mecanismos de retroalimentación negativa. Un polipéptido adicional, la beta-lipotropina, se secreta junto con la ACTH (22, 23).

El control nervioso de la hipófisis se ejerce por neuronas secretorias ubicadas en el hipotálamo (factores liberadores e inhibidores), cuyas terminales se encuentran en la eminencia mediana, en íntimo contacto con los capilares primarios del sistema porta-hipofisario (23).

Entre los factores estimuladores caracterizados se encuentra la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH). Esta hormona se secreta en las terminales neurosecretorias de la eminencia mediana para regular la síntesis de ambas gonado-

tropinas (LE y FSH) de la adenohipófisis (24).

Estudios previos, han demostrado que la desnutrición en ratas induce una reducción de gonadotropinas en suero y en la hipófisis, así como en los niveles séricos de testosterona y de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH), de lo cual resulta una disminución en la función gonadal y de un retardo en el inicio de la pubertad (25, 26).

2.2 GLANDULA PINEAL:

Las condiciones de luz ambiental influyen sobre la producción de melatonina por la glándula pineal en diferentes especies de animales adultos, por medio de un sistema neurológico bien identificado que se inicia en la retina hasta terminar en los elementos parenquimatosos de la glándula pineal (27, 28).

El contenido de melatonina disminuye en presencia de luz y alcanza su máximo nivel en la obscuridad. La melatonina es siempre significativamente menor en animales malnutridos, aún durante la fase luminosa del fotoperiodo que es cuando la actividad de la glándula pineal es mínima (27).

La malnutrición proteico-calórica, afecta la actividad de la glándula pineal debido a que estudios realizados en ratas de laboratorio muestran que los diámetros nucleares de los pinealocitos de animales testigo son significativamente mayores que los de ratas con malnutrición proteico-calórica. Al microscopio electrónico, se observa que el número de vesículas lipídicas es mayor en animales testigo que en los animales malnutridos. El reticulo endoplásmico rugoso en las células de animales malnutridos en general, no está bien organizado (27).

La pinealectomía o la exposición de los animales a luz continua (pinealectomía fisiológica) es capaz de restaurar parcialmente la actividad reproductora de los tejidos en ratas malnutridas (25, 27). Por otro lado, la inyección de melatonina, supuesta hormona antigonadotrópica pineal, influye en el incremento del peso de testiculos y órganos sexuales accesorios en ratas macho malnutridos (26).

3. EFECTO DE LA DESNUTRICION SOBRE LAS SUPRARRENALES:

Existen estudios principalmente de comportamiento animal, para establecer la influencia que ejerce la malnutrición materna sobre la respuesta de las glándulas pituitaria-adrenal en la camada, bajo condiciones de stress. Estos estudios muestran que las crías malnutridas presentan disminución en los niveles de corticosterona comparado con crías testigo. Sin embargo, los niveles de corticosterona plasmática se elevan en las madres tanto testigos como malnutridas, cuando se aplican shocks a sus crías, decreciendo a valores normales después de un tiempo (29).

Debido a que las glándulas suprarrenales contribuyen en los niveles plasmáticos de progesterona en la rata, se postula la posibilidad de que estas glándulas estén involucradas en la regulación del transporte del óvulo, sin embargo, los estudios realizados por Forcelledo, M. L. y col. demuestran que el papel de las suprarrenales en este transporte es mínimo, y parece ser que en los animales con ovarios intactos es totalmente dispensable (30).

4. EFECTO DE LA DESNUTRICION SOBRE LOS OVARIOS Y LA FUNCION GONADAL:

El ovario de los mamíferos, tiene doble finalidad: la producción de los óvulos y la secreción de dos hormonas sexuales femeninas, los estrógenos y la progesterona (22, 23).

Los esteroides secretados en el ovario son responsables de la regulación del transporte del óvulo, y la secreción de progesterona después del coito juega un papel importante en este transporte (30).

Estudios previos, muestran que la ultraestructura de las células de la granulosa están involucradas en la síntesis y secreción de glicoproteínas (FSH y LH), cuya composición es mayor en el fluido folicular (31).

Por otro lado, una dieta con menos de 6% en el contenido de proteínas, produce reabsorciones fetales en un 85% de las ratas hembra en el día 18 de la gestación. La inyección de progesterona entre el 3er y 10º día del embarazo, neutraliza el efecto de la restricción proteica. Asimismo, la inyección de prolactina entre los días 3 y 12 del embarazo posee el mismo efecto benéfico de la progesterona sobre el desarrollo embriológico. La aplicación de corticosterona, los días 5 a 9 de la gestación puede suplir a la progesterona y mantener la gestación. Estos hallazgos sugieren que el efecto de la restricción proteica sobre el desarrollo embriológico puede condicionar una carencia de secreciones hormonales por la glándula hipofisaria y el ovario (32).

La atrofia de los órganos reproductores y la hipofunción como resultado de la desnutrición, ocurre debido a una alteración en el control del eje hipotálamo-gonadal (33).

La restricción alimenticia induce a la prolongación del diestro en el ciclo estral de la rata, alteraciones de los niveles de gonadotropinas en hipófisis y disminución en el peso de los ovarios y del útero con evidencias microscópicas de hipofunción (33).

4.1 RELAXINA:

La relaxina es una hormona polipeptídica que está presente en suero y ovarios de muchas especies de mamíferos, durante la segunda mitad del embarazo, se produce en alto nivel en el cuerpo lúteo (34, 35, 36).

Algunos estudios muestran que los niveles de relaxina en suero y ovario pueden usarse como indicadores de la actividad del cuerpo lúteo durante la segunda mitad del embarazo en la rata (34).

La hipófisis tiene una importante función reguladora de la secreción y síntesis de relaxina por el cuerpo lúteo. Durante la primera mitad del embarazo, la hipófisis es luteotrófica, provee de PRL y LH requerida para promover la secreción lútea de progesterona, la cual es necesaria para mantener el embarazo. Después del día 12 de la gestación la hipófisis puede ser removida, pues la placenta es suficiente para mantener los niveles séricos de progesterona, niveles séricos de relaxina y el embarazo (37).

Las funciones de esta hormona incluyen la inhibición de la actividad uterina (miometrial), in vivo e in vitro, dilatación del cuello uterino, relajación de la sínfisis púbica y otras uniones pélvicas (38, 39).

4.2 PERIODICIDAD SEXUAL EN LA RATA:

El ciclo comprende una serie de cambios en el sistema reproductor, que culmina con el estro o celo. La rata hembra madura muestra un ciclo poliestral, a lo largo del año.

El ciclo se divide en cuatro fases: el proestro (que dura 18 horas) es básicamente un periodo de preparación, durante el cual crecen los folículos que están madurando y aumenta la salida de estrógenos; el estro (que dura unas 28 horas) es el periodo de receptividad sexual o celo, la secreción de estrógeno es máxima durante ésta fase. Al aumentar la salida de esta hormona, se inhibe la liberación de FSH y estimula la LH, ésta provoca la ovulación y disminuye la secreción de estrógenos; el metaestro (con una duración de unas 8 horas) se caracteriza por una invasión intensa de leucocitos en el frotis vaginal; el diestro (que dura unas 53 horas) se manifiesta con la aparición de células epiteliales nucleadas junto con leucocitos en los frotis vaginales, y por la formación de cuerpos lúteos. El diestro va seguido del proestro de un nuevo ciclo, con un nuevo incremento en la secreción de FSH como consecuencia de la reducción en la salida de estrógenos (22, 23).

Este ciclo depende de la interacción recíproca de las secreciones hipofisarias y ováricas (22).

Algunos investigadores establecen la necesidad de una dieta con un suplemento adecuado de proteínas para el inicio y mantenimiento de ciclos estrales regulares en la rata hembra (26).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Existe una elevada incidencia de desnutrición y los factores causantes de esta alteración son diversos; indiscutiblemente el factor económico se encuentra implicado como determinante principal en la problemática de la desnutrición y se agrava por el crecimiento exagerado de la población, porque la producción de alimentos no crece en igual proporción y por el bajo nivel educacional de una gran parte de la población, ya que los recursos económicos de la familia se desperdician ó no se utilizan adecuadamente. Además de la ignorancia de las reglas básicas de higiene, produciéndose así un círculo vicioso temible: desnutrición-infección, que es la causa principal de la muerte de niños en el mundo (4, 9, 40).

El exceso de consumo de cereales, como el maíz, observable en poblaciones de bajo poder adquisitivo condicionan el tipo de malnutrición que más afecta a numerosos grupos humanos, debido a que los cereales presentan deficiencias en aminoácidos considerados indispensables como lo son el triptofano y la lisina, y en otros elementos como el hierro, retinol, riboflavina, ácido ascórbico y cobalamina (41, 42).

En nuestro país, como en otras partes del mundo, se da un modelo natural, debido a que la alimentación está basada fundamentalmente en el maíz, ya que es una buena fuente de energía y de bajo costo. Sin embargo, la deficiencia de dos aminoácidos indispensables, permite establecer un modelo de desnutri-

ción crónica en animales de laboratorio que se manifiesta en alteraciones de la reproducción tales como ; inhibición de la ovulación, disminución de la fertilidad y supresión de la gestación (42, 43).

No obstante que los trabajos comunicados a la fecha en relación con los cambios estructurales, fisiológicos y bioquímicos en la regulación del sistema neuroendócrino, producidos por restricción proteica y/o proteico-calórica han sido bien detallados, no se conoce en la actualidad cual o cuales son las modificaciones estructurales producidas por una alimentación a base de maíz sobre los órganos involucrados en la gestación y en los mecanismos bioquímicos que desencadenan el parto en la rata.

III. O B J E T I V O S:

1) OBJETIVO GENERAL:

Caracterizar los cambios estructurales que produce una dieta a base de maíz, deficiente en proteínas, así como en los aminoácidos triptofano y lisina sobre Hipotálamo (anterior, medial y eminencia mediana), Hipófisis (anterior), Glándula Pineal, Suprarrenales y Ovarios de ratas en gestación durante la etapa cercana al parto.

2) OBJETIVOS PARTICULARES:

a) Determinar bajo condiciones de alimentación normal (23% de proteínas) la estructura del Hipotálamo, Hipófisis, Glándula Pineal, Suprarrenales y Ovarios de rata durante la etapa final de la gestación.

b) Conocer el efecto que posee una alimentación con 8% de proteínas sobre los tejidos anteriormente mencionados.

c) Observar que cambios estructurales se presentan en los tejidos en estudio cuando se administra a las ratas una alimentación a base de harina de maíz.

d) Estudiar la estructura de esos órganos cuando se administran dietas a base de harina de maíz suplementadas con triptofano.

e) Probar sí el suplemento de triptofano a dietas a base de harina de maíz es determinante para revertir los cambios en la estructura de esos órganos.

IV. HIPOTESIS:

La administración de una dieta a base de harina de maíz deficiente en triptofano y lisina ocasiona cambios estructurales en los órganos del eje Hipotálamo-Hipófisis-Glándula Pineal-Suprarrenal-Ovario que serán evidentes mediante estudios con microscopía óptica.

V. MATERIAL Y METODOS:

En el presente trabajo se emplearon 10 ratas (*Rattus norvegicus*) nulíparas, sexualmente maduras, de la cepa Wistar del sexo femenino, con un peso promedio de 195 gramos y de ocho a diez semanas de edad.

Elaboración de dietas:

Se elaboraron cuatro diferentes tipos de dieta:

- a) Una dieta con 23% en el contenido de proteínas que constituyó al grupo testigo.
- b) Una dieta a base de harina de maíz con 8.4% de proteínas.
- c) Una dieta con 8% de proteínas en base al alimento para roedores, Anderson Clayton (A.C.).
- d) Una dieta a base de harina de maíz suplementada con triptofano con 9.6% en el contenido de proteínas.

* Debido a que no se pudo obtener la lisina, no se elaboró la dieta suplementada con este aminoácido.

Administración de las dietas:

Una vez elaboradas cada una de las diferentes dietas, se administraron a las ratas nulíparas de los cuatro grupos de trabajo. Dichas dietas se proporcionaron ad libitum, diariamente y durante 6 semanas previas al apareamiento. El apareamiento se llevó a cabo con dos hembras y un macho que fueron colocados en la misma jaula. Se tomaron citologías vaginales diariamente y se tiñeron con la técnica de Papanicolaou. Se observaron los ciclos estrales y se determinó el día 0 de la gestación por la aparición de espermatozoides en la citología vaginal.

Durante el periodo de gestación de las ratas se continuó con el mismo esquema de administración de dietas.

De los animales en experimentación de los cuatro grupos de trabajo, se registró el peso corporal inicial y final después del periodo de alimentación.

Tres ratas constituyeron al grupo testigo, tres ratas más al grupo alimentado con harina de maíz, dos ratas al grupo alimentado a base de 8% de proteínas y dos ratas al grupo alimentado con harina de maíz suplementada con triptofano.

Estudio estructural:

Cada una de las 10 ratas fueron anestesiadas al momento del parto con pentothal sódico a una concentración de 50 mg/kg de peso corporal. Mediante incisión torácica se localizó el corazón y se fijaron los órganos por perfusión intracardiaca, teniendo como vía de entrada de las soluciones perfundidas, el ventrículo izquierdo y como vía de salida, la aurícula derecha. La perfusión se inició con una solución lavadora de Ringer-Fosfato-Bicarbonato, pH 7.4, a temperatura ambiente y durante 3 minutos. Esta solución contenía procaína y heparina a una concentración de 1 gr/l y 6 mg/l respectivamente. La perfusión se continuó con una solución fijadora de glutaraldehído al 2.5% en amortiguador de cacodilato de sodio 0.1 M, pH 7.4 y 500 mOsm/l durante 15 minutos a temperatura ambiente (44). Mediante cesarea se expuso la cavidad abdominal para recuento de productos, placentas y número de reabsorciones. A continuación, se llevó a cabo en todos los casos craneotomía con extracción total del encéfalo y se fijó adicionalmente por inmersión con 2.5% de glutaraldehído amortiguado. Se obtuvieron las áreas de hipotálamo (región anterior, región medial y zona de eminencia mediana), hipófisis (anterior) y glándula pineal para ser incluidas en resinas epoxy. Por otro lado, se diseccionaron las suprarrenales y los ovarios en todos los casos, y el material fué incluido en parafina y en resinas epoxy.

Microscopía óptica:

Estudio de material incluido en parafina;

Los fragmentos de una de las suprarrenales y de un ovario previamente fijados, fueron deshidratados en alcoholes de concentraciones ascendentes, aclarados en xilol e incluidos en parafina. Se obtuvieron cortes de 4 micras de espesor en el mi crotomo y fueron teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina para ser examinados al microscopio de luz.

Estudio de cortes semifinos incluidos en resinas epoxy;

Las muestras de hipotálamo, hipófisis, glándula pineal, así como las de ovarios y suprarrenales obtenidos después de la fijación por perfusión con glutaraldehído, se cortaron cuidadosamente en fragmentos pequeños y se fijaron adicionalmente en una solución de glutaraldehído al 2.5% amortiguado con cacodilato de sodio 0.1 M, pH 7.4 durante una hora a temperatura ambiente. Posteriormente se lavaron en el mismo amortiguador por 12 a 14 horas a 4°C y al día siguiente se postfijaron en tetróxido de osmio al 1% amortiguado durante 2 horas a temperatura ambiente (45). Los fragmentos de tejido se deshidrataron en concentraciones ascendentes de alcohol etílico, desde alcohol al 50% hasta llegar al 100%, se infiltraron en mezclas de óxido de propileno-resina y se incluyeron en Epon 812 durante 24 horas a 60°C (46). En un Ultramicrotomo MT-1 Porter Blum, se obtuvieron cortes de una micra de espesor, se colectaron en porta-objetos de vidrio y se tñieron con azul de toluidina para ser ob-

servados al microscopio de luz.

Se obtuvieron fotomicrografías en un Fotomicroscopio Wild de cada uno de los tejidos de los diferentes grupos de animales.

SECRETARIA DE EDUCACION DE CHILE

VI. RESULTADOS:

En la tabla No. 1 se observan los pesos iniciales a la administración de dietas, así como los pesos al sacrificio de cada una de las 10 ratas utilizadas en el presente estudio estructural.

Como se puede apreciar, los animales sometidos a dietas a base de harina de maíz, presentaron un peso mucho menor al momento del sacrificio en comparación con los animales testigo, aún cuando estos animales fueron los de menor peso inicial. Asimismo, los animales alimentados con harina de maíz suplementada con triptofano, presentaron poco aumento de peso durante el estudio, sin embargo se pudo observar que estos pesos eran un tanto mayores comparados con los animales alimentados a base de harina de maíz únicamente.

HIPOTALAMO: La morfología de neuronas, hiperchromacia, la distribución general de neuropilos, el porcentaje de células gliales y neuronas, así como la estructura de vasos, tanto del hipotálamo anterior, como del hipotálamo medial presentaron una estructura normal al microscopio óptico, bajo condiciones de alimentación con 8% de proteínas, alimentación a base de harina de maíz, así como alimentación de harina de maíz suplementada con triptofano. De igual forma la citoarquitectura de la capa endimaria, interna y externa de la eminencia mediana permanecen sin cambios aparentes al microscopio óptico bajo las condiciones de alimentación antes mencionadas (fig. 1). Es posible que las modificaciones estructurales sean tan finas que solo puedan observarse mediante estudios con microscopía electrónica.

ADENOHIPOFISIS: No se observaron cambios estructurales aparentes en la pars distalis de la adenohipófisis, en los animales alimentados con harina de maíz, dieta con 8% en el contenido de proteínas y harina de maíz suplementada con triptofano (fig. 2). De igual forma los cambios estructurales pueden ser tan finos que solo puedan observarse al microscopio electrónico.

GLANDULA PINEAL: En los animales testigo alimentados con 23% de proteínas, se observa gran cantidad de estructuras lipídicas (fig. 3); en las ratas alimentadas con harina de maíz se observa menor cantidad de estas estructuras lipídicas, los espacios intercelulares amplios producen constricción celular,

es por ello que se observa citoplasma denso, esto puede deberse a cambios estructurales, sin embargo sería necesario llevar a cabo un estudio más amplio para poder corroborarlo (fig. 4). Los animales alimentados con dieta al 8% de proteínas presentan citoplasma finamente granular, aunque la proporción de gránulos es menor comparada con los animales testigo, el espacio perivascular se observa normal, amplio, claro y finamente distendido (fig. 5). En los animales alimentados con harina de maíz suplementada con triptofano se observa una disposición normal de los pinealocitos, en masa, el contenido de estructuras lipídicas es mayor en comparación con los animales alimentados a base de harina de maíz únicamente (fig. 6).

SUPRARRENALES: En los animales tratados con dieta a base de harina de maíz se observa que las células de la capa glomerular de la corteza suprarrenal se disponen en arreglo pseudoacinar, son de un tamaño ligeramente mayor que el de los testigos con dieta que contiene 23% de proteínas, y muestran un citoplasma multivacuolar con núcleos en ubicación central. El espesor de la capa glomerular es semejante al observado en los animales testigo (fig. 7). En general las células de la capa fascicular poseen una o dos vacuolas grandes perinucleares. Existe una disminución en el grosor de esta capa (lo mismo sucede en los animales alimentados con dieta al 8% de proteínas) (fig. 8). En la capa reticular en general, existe un ligero aumento en la vacuolación celular comparada con los animales alimentados con dieta testigo. Se observan focos de

eritropoyesis extramedulares principalmente en esta capa (fig. 9). La médula no presenta modificaciones estructurales aparentes.

En los animales alimentados con dieta a base de 8% de proteínas, las células de la capa glomerular se disponen en cordones, muy semejante a lo observado en la dieta testigo, presentan citoplasma multivacuolar. La capa fascicular presenta células con una o dos grandes vacuolas perinucleares, existe disminución en el grosor de esta capa (igual sucede en los animales alimentados con harina de maíz. La capa reticular presenta un ligero aumento en la vacuolación celular en comparación con los animales testigo. La médula no sufre cambios estructurales aparentes.

Los animales alimentados con dieta a base de harina de maíz suplementada con triptofano, presentan ligera disminución en el espesor de la capa glomerular en comparación con los testigos. Los cordones están formados por células de citoplasma multivacuolar en una proporción mayor que los testigos y menor que los de la dieta de harina de maíz. El aspecto de la capa fascicular no mejora cuando se adiciona triptofano a la dieta a base de harina de maíz, presenta una o dos grandes vacuolas perinucleares. En la capa reticular existe un ligero aumento en la vacuolación celular comparada con la de los testigos. En la médula no existen cambios aparentes.

OVARIOS: En los ovarios de ratas alimentadas con dieta a base de harina de maíz, se observan varios cuerpos amarillos simultáneamente, indicio de poliovulación. Además se ob-

servan varios folículos en diferente estado de maduración, y dilatación de los espacios vasculares (fig. 10). En las ratas alimentadas con dietas al 8% de proteínas, se observan algunos cuerpos amarillos y folículos en diferente estado de maduración. En los animales alimentados con harina de maíz suplementada con triptofano, los oviductos permanecen sin alteración.

VII. DISCUSION:

Por su deficiencia en el contenido de proteínas, y de los aminoácidos triptofano y lisina, la dieta a base de harina de maíz puede considerarse como un buen modelo experimental para entender los mecanismos de producción de alteraciones bioquímicas, morfológicas y funcionales durante el desarrollo.

Los pesos corporales de las ratas reflejan en el momento de la concepción las reservas proteicas corporales con las que cuentan para todo el periodo gestacional (3, 4), por lo que, cuando las ratas se alimentaron con dietas al 8% de proteínas, a base de harina de maíz y/o maíz-triptofano, fué evidente que siempre mantuvieron pesos por abajo del grupo testigo (23% de proteínas) e incluso al momento del sacrificio.

La amplia divergencia observada en el peso corporal de las ratas al momento de ser sacrificadas, permite afirmar que las condiciones de nutrición de los cuatro grupos experimentales son significativamente diferentes.

Por otra parte, algunos investigadores han establecido la necesidad de suplementar las dietas con un contenido adecuado de proteínas para el inicio y mantenimiento de los ciclos estrales regulares en la rata hembra (26), esto podría ser el motivo por el cual, los animales alimentados solamente con dietas a base de maíz o maíz suplementado con triptofano mostraron anomalías en sus ciclos estrales, y por ende las modificaciones de baja fertilidad encontradas en el presente estu-

dio.

El porcentaje de embarazos disminuyó notablemente en los animales alimentados con harina de maíz, esta característica no mejoró cuando se adicionó triptofano a la dieta.

Asimismo, se conoce que una dieta con menos de 6% en el contenido de proteínas, produce reabsorciones fetales en un 85% de las ratas hembra en el día 18 de la gestación. Este efecto puede neutralizarse con la aplicación de progesterona, prolactina ó corticosterona (32). En este estudio el hecho de aplicar dietas a base de harina de maíz con un contenido de 8.4% de proteínas, pero además deficiente en triptofano y lisina, es factible que se observen reabsorciones en estos casos, o que el producto de la gestación sea mínimo.

Por otro lado, la glándula pineal de animales testigo presenta gran cantidad de vesículas lipídicas. Los lípidos están involucrados en el metabolismo celular así como en la estructura membranal. De los varios tipos de lípidos presentes, los fosfolípidos son los más abundantes (27). Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que los animales alimentados con dieta a base de harina de maíz presentan una notable reducción de estas estructuras lipídicas, asimismo, las ratas alimentadas con dietas al 8% de proteínas y harina de maíz suplementada con triptofano muestran reducción en el número de vesículas lipídicas aunque en menor proporción que en los animales alimentados con harina de maíz únicamente. Basándonos en estas observaciones, parece

ser que las actividades metabólicas generales de los pinealocitos son menores en las ratas alimentadas con harina de maíz, harina de maíz suplementada con triptofano y 8% de proteínas en comparación con los animales alimentados con dieta de 23% de proteínas.

Por lo que respecta a las glándulas suprarrenales, el ligero aumento en el tamaño de las células de la capa glomerular observado en los animales alimentados con harina de maíz es causado por cualquier factor que interfiera con el metabolismo celular y está comunmente asociado con trastornos circulatorios como la anemia, donde el oxígeno llevado a las células es insuficiente. Asimismo, la disminución en el grosor de la capa glomerular y fascicular, así como el incremento en la vacuolación celular observada en los animales alimentados con harina de maíz, harina de maíz suplementada con triptofano y 8% de proteínas, son debidos al stress que produce la ingestión crónica de dietas deficientes en proteínas y a la anemia que presentan los animales (47). Los focos de eritropoyesis extramedulares observados principalmente en la capa reticular son producto de la anemia que presentan los animales (47, 48).

Por otra parte, los ovarios, tanto de ratas alimentadas con harina de maíz, harina de maíz-triptofano y 8% de proteínas presentan varios cuerpos lúteos en la misma preparación que son un indicio de poliovulación, también se observan folículos en diferente estado de maduración. De esta manera, el síndrome de Stein-Leventhal está asociado con disfunción

menstrual, infertilidad y ovarios policísticos, ya que éstos contienen numerosos folículos en varios estados de maduración ó atresia y no alcanzan su total maduración (31).

Es importante aclarar que como la dieta suplementada con lisina no fué posible elaborarla, no contamos con la información que el estudio con microscopía óptica nos podría haber reportado.

VIII. CONCLUSIONES:

1. En los cortes de las diferentes regiones de hipotálamo (anterior, medial y eminencia mediana) no se observaron modificaciones estructurales al microscopio óptico bajo condiciones de alimentación con 8% de proteínas, alimentación a base de harina de maíz así como alimentación de harina de maíz suplementada con triptofano.
2. No se observaron cambios estructurales aparentes en la pars distalis de la adenohipófisis bajo las condiciones de alimentación antes mencionadas.
3. En las glándulas suprarrenales de los animales alimentados con dietas al 8% de proteínas, harina de maíz y harina de maíz suplementada con triptofano se observó disminución en el grosor de la capa glomerular y fascicular, así como un incremento en la vacuolación celular, ocasionados por el stress que produce la ingestión crónica de dietas deficientes en proteínas.
4. En la glándula pineal de los animales alimentados con dietas al 8% de proteínas, a base de harina de maíz y harina de maíz suplementada con triptofano existe una notable reducción de estructuras lipídicas, esto parece indicar que las actividades metabólicas generales de los pinealocitos son menores en estos animales en comparación con los animales alimentados con dieta de 23% de proteínas.

5. En los cortes de ovarios se observaron varios cuerpos lúteos en la misma preparación y folículos en diferente estado de maduración. Estas características son similares a las observadas en ovarios policísticos y parecen tener relación con el síndrome de Stein-Leventhal.

II. TABLAS Y FIGURAS:

TABLA No. 1

Tipo de dieta	Peso inicial (grs.)	Peso al sacrificio (grs.)	Incremento de peso durante el estudio (grs.)
23% de proteínas	173.0 (3)	387.5	216.0
Harina de maíz	201.0 (3)	252.5	51.5
8% de proteínas	226.0 (2)	277.0	151.5
H. de maíz-try	200.0 (2)	300.5	98.0

* Pesos promedio de las 10 ratas en experimentación.
 No se obtuvieron valores estadísticos por el bajo
 número de muestra.

fig. 1

Microfotografía (gran aumento) de un corte de hipotálamo. Puede observarse que la morfología de neuronas, el porcentaje de células gliales y neuronas, así como la estructura de vasos presentan una estructura normal, bajo condiciones de alimentación con bajo contenido de proteínas, alimentación a base de harina de maíz, así como alimentación a base de harina de maíz suplementada con triptofano.

fig. 2

Microfotografía (gran aumento) de un corte de adenohipófisis. Se observa que se mantiene la estructura normal de la pars distalis bajo las diferentes condiciones de alimentación.

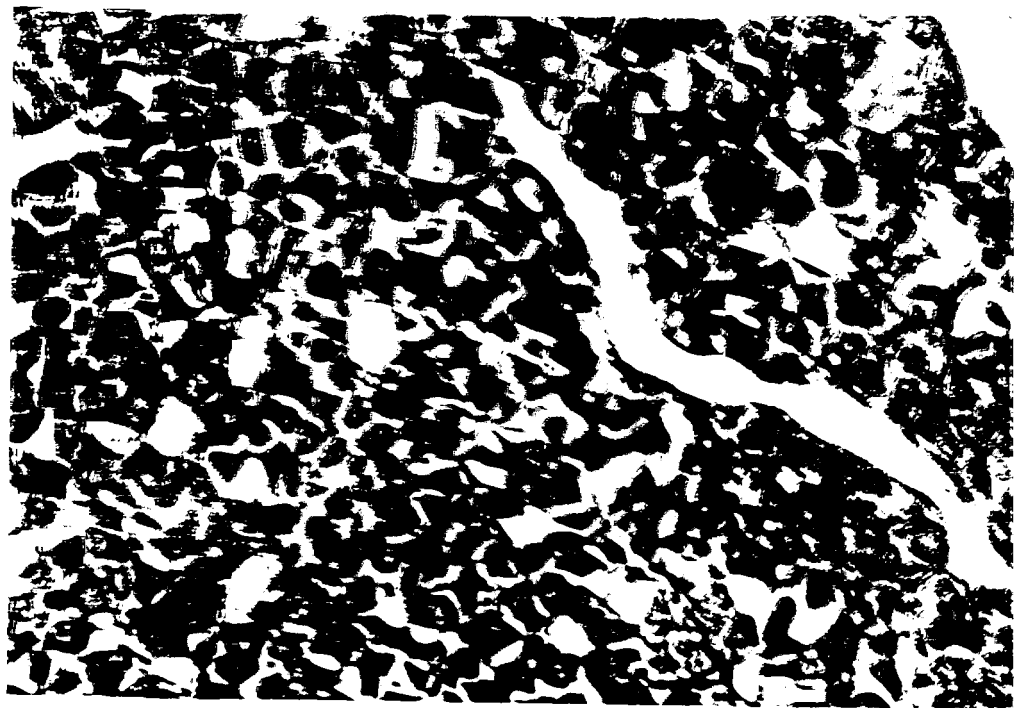
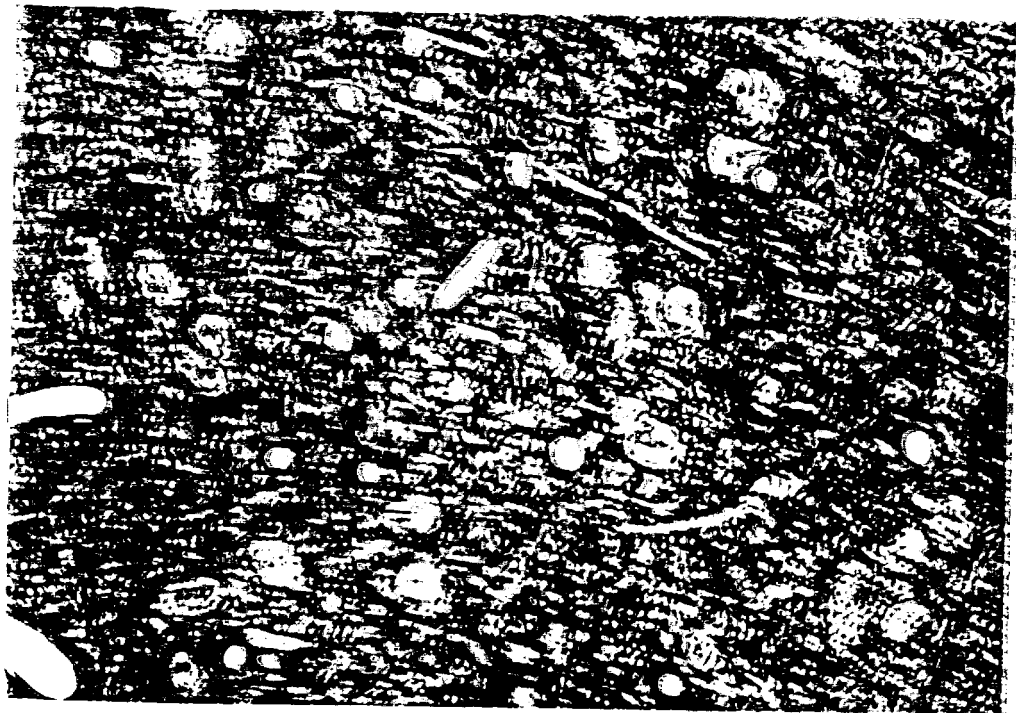


fig. 3

Microfotografía (poco aumento) de un corte de glándula pineal de un animal testigo, que muestra gran cantidad de estructuras lipídicas, el espacio perivascular es amplio, claro y finamente distendido.

fig. 4

Microfotografía (gran aumento) de un corte de glándula pineal de un animal alimentado con harina de maíz. Se observa una disminución en el número de vesículas lipídicas, los espacios intercelulares amplios producen constricción celular, es por ello, que se observa el citoplasma denso.

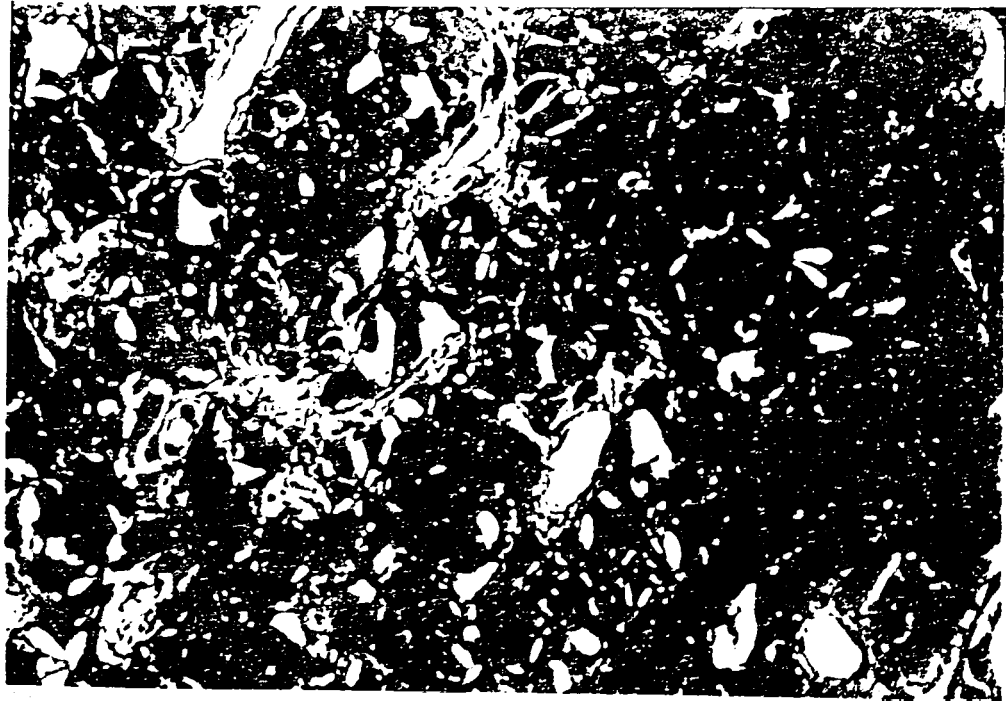
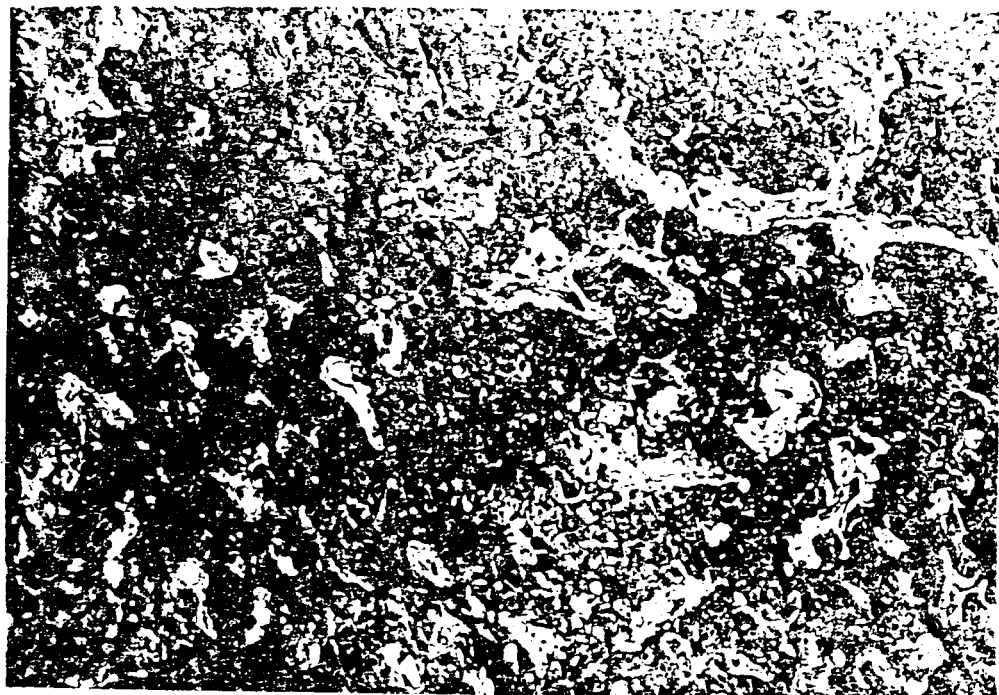


fig. 5

Microfotografía (poco aumento) de un corte de glándula pineal de un animal alimentado con 8% de proteínas, que muestra citoplasma finamente granular, aunque la proporción de vesículas lipídicas es menor comparado con los animales testigo. El espacio perivascular se observa normal.

fig. 6

Microfotografía (gran aumento) de un corte de glándula pineal de un animal alimentado con harina de maíz suplementado con tripotano. Se observa una disposición normal de los pinealocitos, en masa, el contenido de vesículas lipídicas es mayor en comparación con los animales alimentados con harina de maíz únicamente.

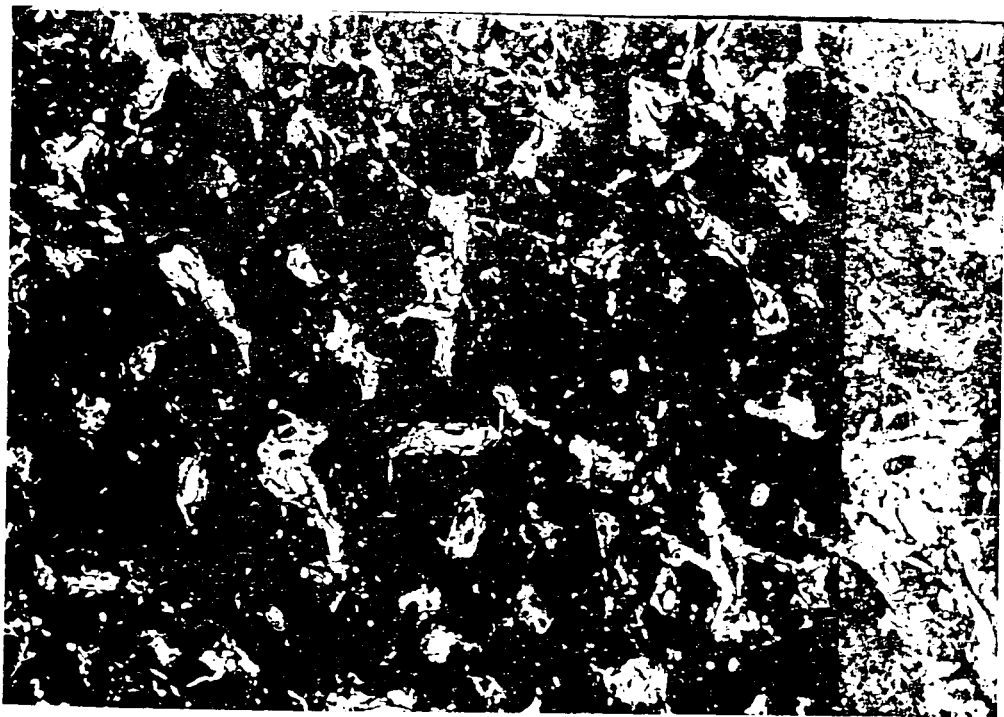


fig. 7

Microfotografía (poco aumento) de un corte de suprarrenal de un animal alimentado con harina de maíz. Se observa la zona glomerular cuyas células muestran uncitoplasma multivacuolar con núcleos en ubicación central.

fig. 8

Microfotografía (poco aumento) de un corte de suprarrenal de un animal alimentado con harina de maíz, que muestra la zona fascicular, las células poseen una o dos vacuolas perinucleares.

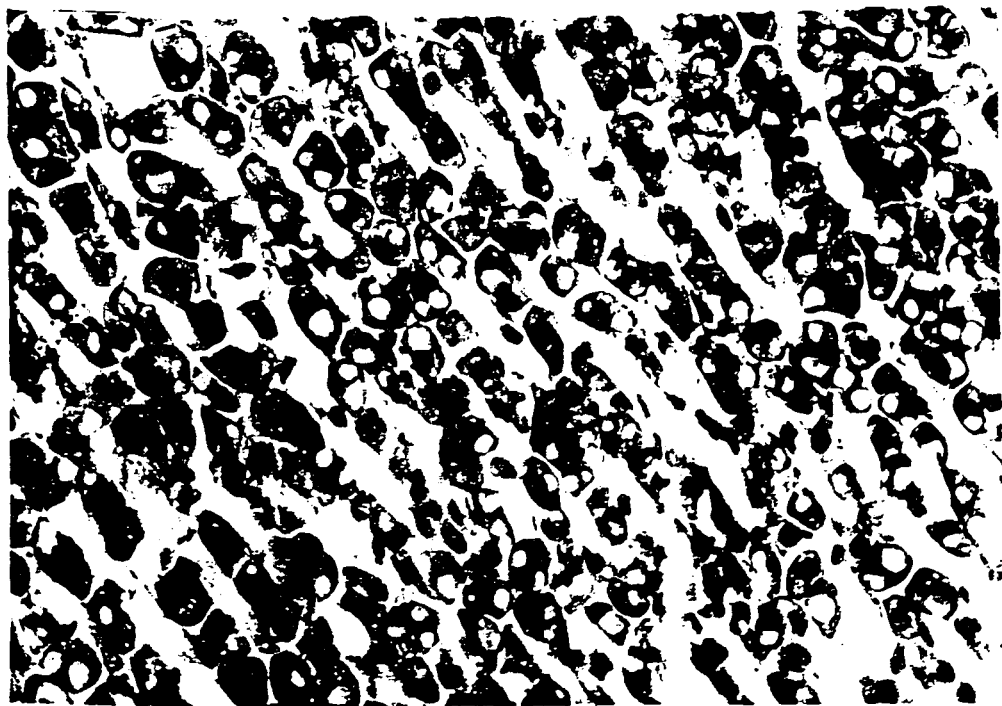
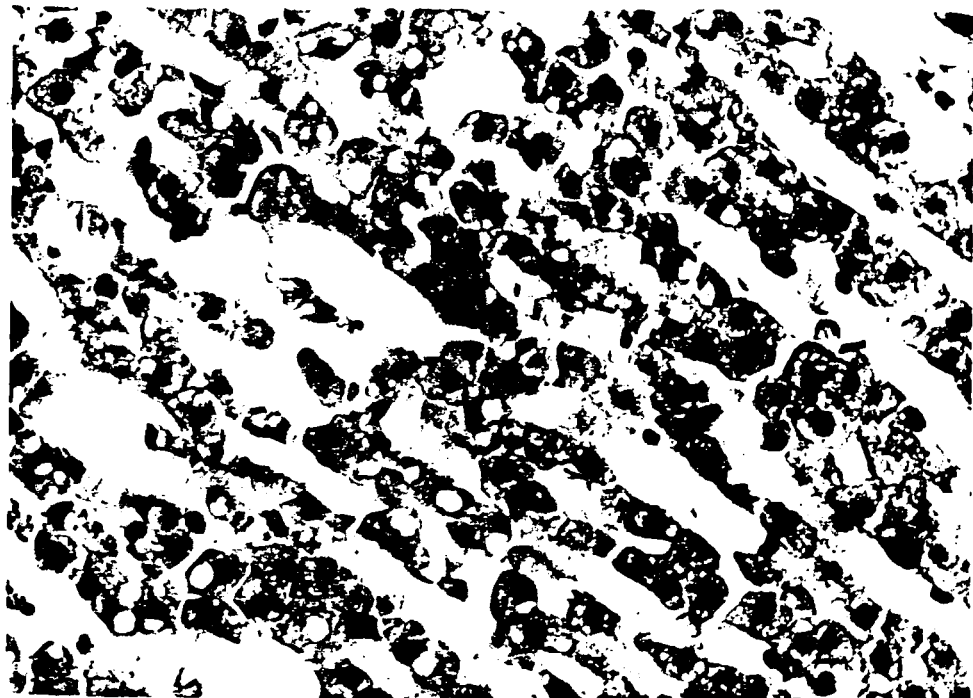
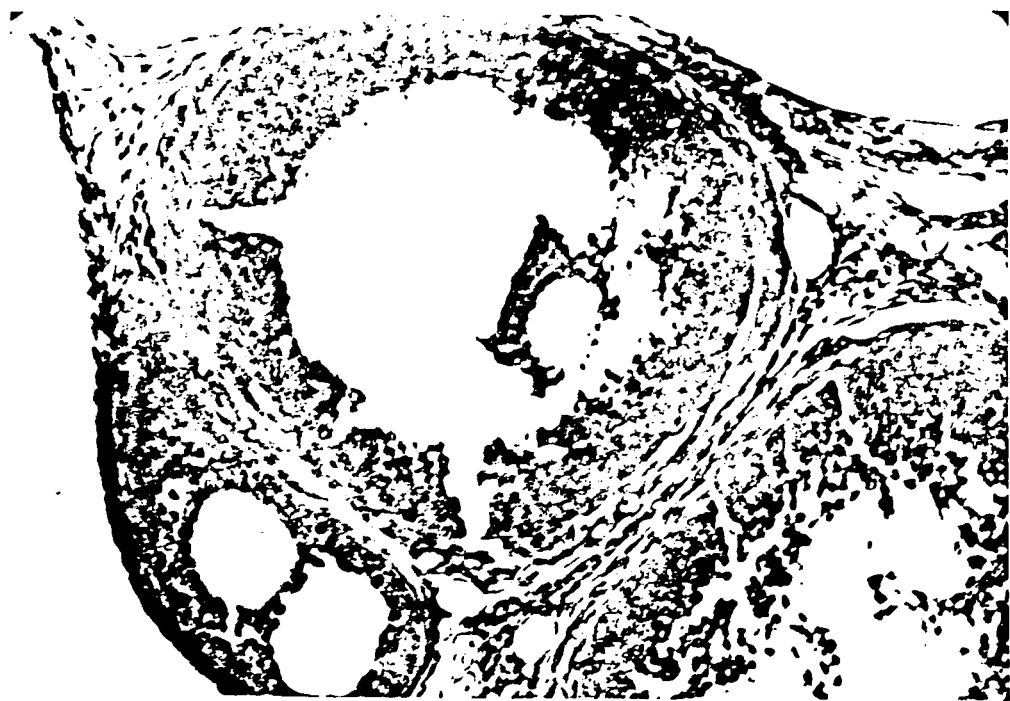
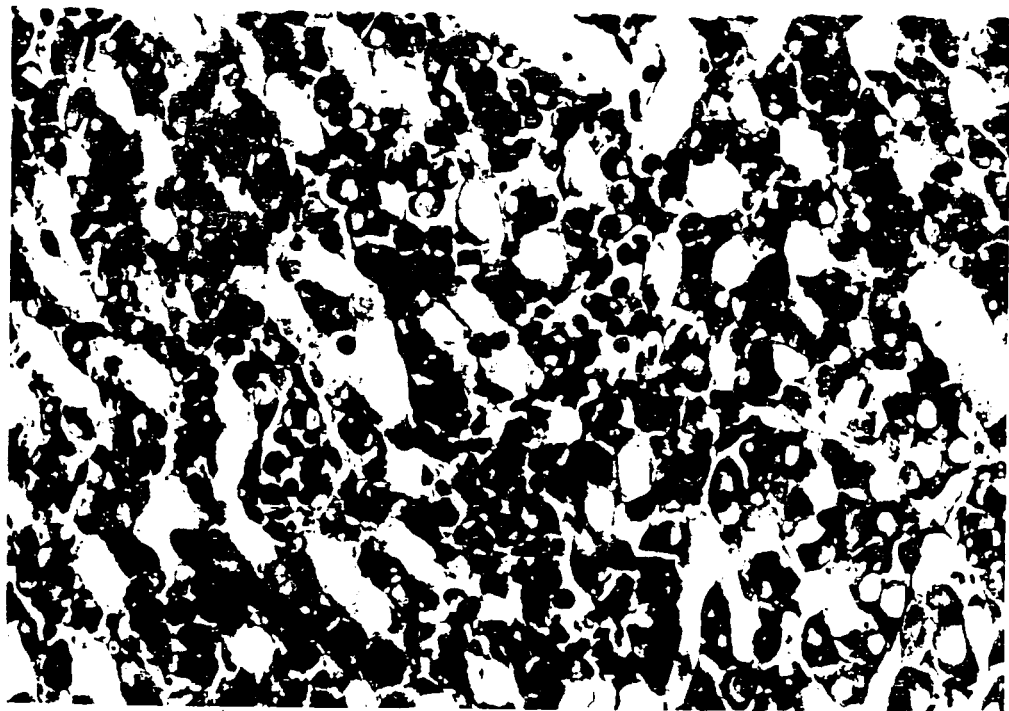


fig. 9

Microfotografía (poco aumento) de un corte de suprarrenal de un animal alimentado con dieta a base de harina de maíz. Se observa la zona reticular, en general existe un ligero aumento en la vacuolación celular comparada con los animales alimentados con dieta testigo. Se observan focos de eritropoyesis extramedulares.

fig. 10

Microfotografía (poco aumento) de un corte de ovario, de un animal alimentado con harina de maíz, se observan dos folículos en diferente estado de maduración y dilatación de los espacios perivasculares.



X. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. RECHCIGL, M. Jr. Handbook Series in nutrition and food. section E: nutritional disorders I: 437-446. Edit. CRC Press, Inc. 1978.
2. FORBES, W.B., TRACY, C., RESNICK, C., y MORGANE, P.J. Effects of maternal dietary protein restriction on growth of the brain and body in the rat. Brain Research Bulletin 2: 131-135. 1977.
3. HANSEL, D.L., KRATZER, D.D., CROWELL, G.L. y RAYS, V.W. Effect of protein malnutrition of the sow reproductive performance and on postnatal learning and performance of the offspring. Journal of Animal Science 43: 3: 589-597. 1976.
4. RESNICK, C., MORGANE, P.J., HANSON, R. y MILLER, M. Overt and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. Neuroscience and Biobehavioral Rev. 6: 55-75. 1982.
5. SALAS, M. Influencia de la desnutrición sobre el desarrollo cerebral. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. 1:1:9-14. 1978.
6. VEGA-FRANCO, L., ROMO, G. y TOGA, T. Efecto de la desnutrición en las etapas fetal y de la lactancia sobre el crecimiento del sistema nervioso de la rata. Gaceta Médica Mexicana 118: 7: 272-278. 1982.
7. DEL ANGEL, A.R., TAPIA-ARIEMENDI, G. y FERIA-VELASCO, A. Effects of food restriction during lactation on postnatal development of rat cerebellum. Correlative biochemical and structural study. Nutrition Reports International. 30:1: 95-109. 1984.
8. BYRNE, R.A. y SMART, J.L. Delimitation of a sensitive period behavior of adult male rats. Physiology and Behavior. 24: 131-133. 1980.
9. MORGANE, P.J., MILLER, M., KEMPER, T., STERN, W., FORBES, W., HALL, R., BRONZING, J., KISSANE, J., HANRYLEWICZ, E. y RESNICK, C. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. Neuroscience and Biobehavioral Reviews. 2:3: 137-230. 1978.
10. MORGANE, P.J., RESNICK, C., STERN, W., FORBES, W.B., BRONZING, J.D., MILLER, M., LEAHY, J.P., HANRYLEWICZ, E. y KISSANE, J. Maternal protein malnutrition and the developing nervous system. Malnutrition, Environment, and Behavior. 94-122. 1979.

11. REBNICK, O., MILNER, M., FORBES, J., HALL, R., KEMPER, T., BRONZINO, J. y MORGANE, P.J. Developmental protein malnutrition: Influences on the central nervous system of the rat. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 3: 233-246. 1979.
12. MATSURA, O.B. y HARPER, A.H. Differential effects of early malnutrition on active and passive avoidance performance by sex of subject. *Physiological Psychology*. 7: 4: 444-446. 1979.
13. DUBILANSKI, B.H., RAWINDA DE GUGLIMONE, A.E. y GOMEZ, C.J. Nucleocytoplasmic transport of RNA and protein synthesis in developing brain from normal and undernourished rats. *Journal of Neurochemistry*. 34: 1: 226-230. 1980.
14. PATEL, A.J., BALAZS, R. y JOHNSON, A.L. Effect of undernutrition on cell formation in the rat brain. *Journal of Neurochemistry* 20: 1151-1165. 1973.
15. VETULA GALLO, P. Protein restriction during gestation and lactation: Development of attachment behavior in cats. *Behavioral and Neural Biology* 29: 216-223. 1980.
16. SALAS, M. y CINTRA, L. Nutritional influences upon somatosensory evoked responses during development in the rat. *Physiology and Behavior*, 10: 1019-1022. 1973.
17. FREEDMAN, L.S., SAMUELS, S., FISH, I., SCHWARTZ, S.A., LANGE, B., KATE, H. y MORGANE, L. Sparing of the brain in neonatal undernutrition: Amino acid transport and incorporation into brain and muscle. *Science*, 207:22: 902-904. 1980.
18. MILNER, M., LEAHY, J.P., McDEVILLEN, P., MORGANE, P.J. y REBNICK, O. Utilization of 14C-Tyrosine in brain and peripheral tissues of developmentally protein malnourished rats. *Brain Research Bulletin* 3: 681-686. 1972.
19. DIAZ-CINTRA, S., CINTRA, L., KEMPER, T., REBNICK, O. y MORGANE, P.J. The effects of protein deprivation on the nucleus raphe dorsalis: A morphometric Golgi Study in rats of three age groups. *Brain Research*. 221: 243-255. 1981.
20. JONES, D.G., y BILSON, S.E. Synaptic junctions in undernourished rat brain. An ultrastructural investigation. *Experimental neurology*. 54: 3: 529-535. 1976.
21. WEST, C.D. y KEMPER, T.L. The effect of a low protein diet on the anatomical development of the rat brain. *Brain Research* 107: 221-237. 1976.

22. BARRINGTON, E.J.W. Introducción a la endocrinología general y comparada. 2a. edición. E. Blume Ediciones. 1975.
23. CALANDRA, R.S. y DE NICOLA, A.F. Endocrinología molecular Editorial el Ateneo. 1980.
24. SILVERMAN, A.J. y WITHIN, J.W. Synaptic interactions of luteinizing hormone-releasin hormone (LHRH) neurons in the guinea pig preoptic area. The Journal of Histochemistry and cytochemistry 33: 1:69-72 1985.
25. NHI-YOONG, P. y MILNER, J.A. Dietary arginine deprivation and delayed puberty in the female rat. American Institute of Nutrition. 112-118. 1984.
26. HERBERT, D.C. Growth patterns and hormonal profile of male rats with protein-calorie malnutrition. The Anatomical Record 197: 339-354. 1980.
27. WEAVER, F.J. y HERBERT, D.C. Pineal gland morphology in rats with experimentally induced protein-caloric malnutrition. Journal of pineal Research 1: 121-128. 1984.
28. PERIA-VELASCO, TAPIA-ARIZMENDI, G. y WALPICA, I. Efectos de las condiciones de luz ambiental sobre la ultraestructura de la glándula de harder de la rata recién nacida. Archivos de Investigación Médica. 9: 67-84. 1977.
29. WIENER, S.G., SMOTHERMAN, W.P. y LEVINE, S. Influence of maternal malnutrition on pituitary-adrenal responsiveness to offspring. Physiology & behavior 17: 897-901. 1976.
30. FORCELLEDO, M.L., MORALES, P., VERA, R., QUIJADA, S. y CROZATO, H.B. Role of ovarian and adrenal progesterone in the regulation of ovum transport in pregnant rats. Biology of reproduction, 27: 1033-1041. 1982.
31. HAFEZ, R.S.E., KANABE, J., y NOTTA, P.M. Surface Ultrastructure of functional and nonfunctional human ovaries. Int. Journal Fertil 25: 2: 84-99. 1980.
32. IBERICKS, S.M. y BAILEY, L.B. Effect of dietary protein restriction on hormone status and ambryo survival in the pregnant rat. Biology of reproduction. 14: 143-150. 1976.
33. WALKER, R.F. y FRAWLEY, L.S. Gonadal function in underfed rats: II Effects of strogen on plasma gonadotropins after pinealectomy or constant light exposure. Biology of reproduction. 17: 630-634. 1977.

45. FALADE, G.E. A study of fixation for electron microscopy. Journal Experimental Medicine. 95: 285- 1952.
46. LUFT, J.H. Improvements in epoxy resin embedding methods. Journal of Biophysics, Biochemistry and Cytology. 9: 409-414. 1961.
47. BUNNELLS, F.S., MONLUX, W.S. y MONLUX, A.W. Principios de patología veterinaria, anatomía patológica. Editorial CECSA. 1979.
48. GUYTON, A.C. Tratado de fisiología médica. Quinta edición. Editorial Interamericana. 1977.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
Facultad de Ciencias

Expediente.....

Número ...245/85.....

Srita. Silvia Guadalupe Cervantes Sánchez.
P R E S E N T E.

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis: Cambios Estructurales Producidos por una Alimentación a base de Maíz sobre algunos Organos Involucrados en la Gestación de - la Rata" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis el H. en C. Carlos Beas Zárate.

ATENAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"

Guadalajara, Jal., a 27 de Mayo de 1985

El Director,


Ing. Edmundo Ponce Adams



FACULTAD DE CIENCIAS

El Secretario,

Arq. M. Patricio Castillo Paredes.

C.C.P. / Sr. M. en C. Carlos Beas Zárate, Director de Tesis.- Presente.
C.C.P. El Expediente de la alumna.-

mih/.

Dr. Carlos Astengo Osuna.
Director de la Facultad de Ciencias
Universidad de Guadalajara

P r e s e n t e :

Guadalajara, Jal., 30 de Marzo 1987.

Por medio de este conducto me permito comunicar a usted que la Srita. Silvia Guadalupe Cervantes Sánchez pasante de la Licenciatura en Biología, ha concluido satisfactoriamente el trabajo de Tesis que se titula:

"ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE POSIBLES ALTERACIONES ESTRUCTURALES PRODUCIDAS POR UNA ALIMENTACION A BASE DE MAIZ EN ALGUNOS ORGANOS INVOLUCRADOS EN LA GESTACION DE LA RATA".

Asimismo le informo que después de revisar el manuscrito final de dicha Tesis ésta cumple con los requisitos actualmente solicitados por la Facultad de -- Ciencias a su digno cargo.

Sin más por el momento aprovecho la oportunidad para saludarlo y quedo de usted.

A t e n t a m e n t e


M.en C. Carlos Astengo Osuna.