

1 9 8 4

080244746

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



EFFECTO DE RESTRICCIÓN PROTEICA SOBRE EL DESARROLLO
DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE RATAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A

EDNA NORMA VIVAS DE LA TORRE

GUADALAJARA, JALISCO. 1988

INDICE

	Pag.
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	4
OBJETIVOS	20
HIPOTESIS	22
MATERIALES Y METODOS	23
RESULTADOS	27
DISCUSION	34
CONCLUSIONES	42
BIBLIOGRAFIA	44
FIGURAS	

INTRODUCCION

El hambre es uno de los problemas más extendidos en el mundo y la causa más frecuente de muerte, directamente o como causa contribuyente de enfermedades infecciosas, metabólicas, del sistema nervioso y de los órganos de los sentidos. Se ha calculado que cada día hay en el mundo alrededor de 50 000 y 100 000 muertes por efecto de carencias alimentarias (Berlinguer, 1977). Este cálculo es aproximado, pues la palabra hambre no figura en la clasificación nosológica internacional.

Además, en países donde la producción agropecuaria no está planificada ni modernizada, se verifica una progresiva reducción en la producción de alimentos per cápita. En continentes enteros, se da una desesperada carrera contra el tiempo entre desarrollo demográfico y aumento de los medios de subsistencia.

En América latina el 40% de todos los decesos corresponde a niños cuya edad no supera los cinco años, la causa principal que prevalece en esta realidad radica en enfermedades infecciosas, desnutrición, vivienda insalubre, carencias higiénicas e ignorancia. En México el problema de desnutrición ataca amplios sectores de la sociedad debido a diversos factores como mala educación alimentaria, bajos ingresos, el arraigo de patrones culturales alimenticios, etc., que dan lugar a costumbres mal formadas, especialmente en grupos étnicos, numerosos en el país y difícilmente modificables.

La desnutrición que se registra durante los primeros años de vida e inclusive durante la gestación y lactancia merece particular interés ya que pudiera dar lugar a un desarrollo deficiente del individuo. Finalmente se puede afirmar que la esperanza de vida al nacer es más baja entre los pobres. A pesar de los enormes avances socio-económicos de la humanidad, las personas de bajos ingresos mueren antes, sin embargo también en los estratos de mayores ingresos, la desnutrición por vicios alimentarios ocupa

un espacio que es necesario tomar en cuenta si se pretende lograr un diagnóstico epidemiológico objetivo, resultado de una investigación científica, que comprenda las relaciones de interdependencia entre ambiente y sociedad humana.

ANTECEDENTES

La desnutrición se contempla como una problemática mundial para amplios sectores de la población (Berlinguer, 1977), haciéndose urgente la realización de estudios cada vez más profundos, aunados a los ya existentes, de las causas que la producen y sus consecuentes efectos (Avitabile y col., 1981). En México podemos citar algunos ejemplos clásicos que contribuyen a la desnutrición o pueden reflejarnos una idea del problema.

En la ceremonia llamada "hets'Mek" que se realiza entre los chontales (mekik-utiar) y mayas de la península de Yucatán y Belice, una parte del rito consiste en dar a probar a los pequeños alimentos que se consumen a diario en la comunidad, pues se considera que la comida más humilde en la boca del niño le enseñará a comer las cosas más pobres y a conformarse con las vicisitudes de la vida (Ruz, 1987).

En el municipio de Larrainzar, Yucatán, el pan y el café se consumen muy de vez en cuando; que muchos tzotziles no tienen frijoles; que cuando los mestizos sacrifican una res, los indios "rara vez pueden comprar algo más que los intestinos, y que no es raro que los indígenas pasen varios días sin siquiera comer tortillas". De esta manera, la alimentación gravita sobre el maíz, complementado con frijoles y tres o cuatro huevos a la semana, "El chile es imprescindible y la leche prácticamente desconocida"; las manifestaciones carenciales dérmicas y la parasitosis son la norma: "todos descienden de padres desnutridos por lo que hubo desnutrición intrauterina y en la infancia, a causa de las precarias condiciones socioeconómicas.

Además de la elevada mortalidad infantil, tales hechos se traducen en una talla reducida. Los resultados realizados en un estudio antropométrico con 130 niños varones de Cham Kom, Yucatán, muestran que existe una deficiencia que va del 12 al 20% en las reservas calórico-protéicas en relación con las recomendaciones del INCAP (Instituto de Nutrición de

Centroamérica y Panamá) para Centroamérica y Panamá (Ruz, 1987).

La evaluación de los daños por desnutrición se limitó primeramente al aspecto clínico, siendo uno de los principales parámetros a considerar el grado de crecimiento (Winick, 1976), mediante el auxilio de medidas antropométricas (Nowack y Munro, 1977).

En el adulto, la desnutrición severa se caracteriza por la desaparición de tejido adiposo que da lugar a un marcado adelgazamiento, desgaste muscular, hundimiento de ojos y mejillas, protuberancia de codos y rodillas, y acumulación de fluidos en la cavidad abdominal, pies y tobillos entre otras consecuencias (Winick, 1976).

Diversos estudios han reportado la vulnerabilidad de malnutrición de niños, particularmente menores de un año, ancianos, enfermos y más recientemente en lactantes y mujeres gestantes, Hasta en años

recientes solo una ligera atención ha sido puesta en la posibilidad de que la malnutrición en niños pudiera ser diferente a la de los adultos y se ha asumido que no solamente la aflicción fuera necesaria sino también que las anormalidades físicas y de comportamiento en niños fueran reversibles con rehabilitación (Winick, 1976).

La desnutrición severa en niños ha sido tradicionalmente clasificada como Marasmo infantil o Kwashiorkor. El Marasmo es clínicamente una delgadez extrema en niños generalmente menores de dos años, y es causada por una baja ingestión de calorías y proteínas que da por resultado una pérdida muscular extrema, el niño deja de crecer y es muy pequeño para su edad. En esta forma de desnutrición, la homeostasis corporal es mantenida y pueden no reflejarse cambios bioquímicos en la sangre que se asocien con la desnutrición (Winick, 1976; Nowack, 1977; Dickerson, 1979).

El Kwashiorkor es causado por baja ingestión protéica, mientras que la ingestión de carbohidratos permanece relativamente normal, generalmente se presenta en el segundo o tercer año de vida cuando el niño es destetado. Se caracteriza por el rompimiento de la homeostasis corporal que se manifiesta clínicamente por edema, lesiones de la piel, cambios en el cabello y bajos niveles de albúmina sérica. Aunque hay diferencias básicas entre Marasmo y Kwashiorkor, en ambas enfermedades se manifiesta un marcado retardo en el crecimiento (Winick, 1976; Novack y Munro, 1977; Dickerson, 1979).

Otra característica sobresaliente del Marasmo nutricional es la apatía y la hiperirritabilidad que puede indicar que una parte del síndrome da lugar a un funcionamiento inadecuado del sistema nervioso central. Mientras que los cambios metabólicos causados por Kwashiorkor difieren un poco de los del Marasmo. En la deficiencia protéica crónica que da lugar a Kwashiorkor, existen alteraciones bioquímicas que reflejan dificultades para el

mantenimiento de la homeostasis (Nowack y Munro, 1977; Winick, 1976), estas son las dos alteraciones extremas del espectro de la desnutrición calórico protéica que se encuentra en distintos grados en una gran cantidad de niños del mundo (Dickerson, 1979).

La desnutrición en humanos durante el embarazo se expresa con un bajo desarrollo del feto y la placenta, y durante el periodo postnatal como síndrome de Marasmo y Kwashiorkor de modo que existen condiciones bien conocidas de desnutrición, que ocurren en números significativos de la población humana en las diferentes etapas de vida en que el desarrollo del cerebro está tomando lugar (Winick, 1976; Nowack y Munro, 1977).

Consecuentemente muchos estudios clínicos y una gran cantidad de trabajos desarrollados por evaluar la desnutrición en el cerebro, se han concentrado en el periodo prenatal y postnatal (Winick, 1976, Dickerson, 1979). De esta forma, la ausencia de uno o varios nutrientes en la dieta de un individuo, puede ser factor

que limite en forma decisiva el desarrollo de órganos en formación, expresándose esto más tarde en forma física y/o funcional (Ghittoni y Raveglia, 1973; Meberg, 1981; Angulo-Colmenares y col., 1979). Esto ha demostrado que la desnutrición crónica en la infancia está asociada con un retardo en el desarrollo físico e intelectual (Avitabile y col., 1981).

Para la cuantificación de las distintas manifestaciones consecuentes a la desnutrición en el cerebro humano, como cambios morfológicos, histológicos, bioquímicos y de comportamiento, se han desarrollado algunos modelos de restricción en animales (Forbes y col., 1977; Nowack y Hamish, 1977; Wiggins, 1979). Así,

uno de los objetivos principales de dichos modelos consiste en que los individuos reciban un "daño nutricional", y se basa en limitar o ausentar un nutriente (Halas y col., 1982; Porter y col., 1982) o varios de la dieta del animal en tiempos específicos de su desarrollo ontogénico (Forbes y col., 1977).

Los modelos de restricción alimenticia han sido aplicados en diferentes especies animales, tales como borregos (Porter y col., 1982), cerdos (Forsum y col., 1982), y principalmente en ratas (Wiggins, 1979; Tapia, 1982; Del Angel y col., 1984) ya que estas últimas presentan la ventaja de requerir en las primeras etapas de su vida postnatal el mismo patrón de aminoácidos que un niño (Chávez, 1981), y un desarrollo cerebral postnatal (Morgane y col., 1978).

Existen como ejemplos de restricción: 1) El aumento de camada donde pueden hasta duplicarse el número de individuos que normalmente lactan de una madre (Yu y Amy Yu, 1977; Forbes y col., 1977; Winick, 1976; Griffin y col., 1977; Angulo-Colmenares y col., 1979; Bass y col., 1970). 2) Alejamiento de la camada y la madre durante la lactancia por periodos definidos que pueden ir en aumento o disminución; (Wiggins, 1979; Del Angel, 1984). 3) La restricción dietética aplicada a la madre en periodos de gestación o lactancia (Angulo-Colmenares y col., 1979; Morgane y

col., 1978; Van Geijn y col., 1980). 4) Interrupción de flujo sanguíneo a los fetos (Van Geijn y col., 1980; Wigglesworth, 1964; Winick, 1976).

La restricción severa desde los primeros días de gestación, con frecuencia da lugar a una mala implantación uterina del embrión, mientras que una restricción menos drástica, aplicada un poco más tarde no interfiere en la implantación de este (Nowack y Munro, 1977). Zamenhof y col. en 1971 encontraron que, cuando se aplicó una dieta carente de proteínas durante los 10 primeros días de los 21 de gestación en ratas, el 62% de las hembras no lograron su camada.

Estudios realizados por Altman y col. en 1970 indican que 5% es el nivel crítico de proteína en la dieta, en la cuál puede ocurrir reabsorción de fetos, o nacimiento de crías muertas en cantidades significativas; mientras que en dietas con 10% de proteína no se han advertido efectos en la camada. Así, un

exceso de aminoácidos aromáticos dan lugar a un retardo de desarrollo cerebral. Matsueda y Niiyama en 1982 sugieren que la barrera hematoencefálica en el cerebro de fetos es dañada por un exceso de estos aminoácidos en la madre, en tanto que, un suministro bajo en proteínas durante el embarazo es responsable de pequeñas modificaciones en el peso de los fetos que son mas marcados hacia el fin de la gestación (Bernorchi y Scherini, 1980).

El establecimiento de una dieta adecuada desde el nacimiento en ratas con desnutrición intrauterina no reestablece los pesos cerebrales en la edad adulta para ratas normales (Forbes y Morgane, 1977). Mientras que el feto en desarrollo, está sujeto a un nivel de retardo como resultado de una alimentación inadecuada, el neonato es considerablemente mas vulnerable a una desnutrición severa, ya que el lactante es totalmente dependiente de la madre para su suplemento alimenticio (Nowack y Munro, 1977).

Ratas alimentadas desde el sexto día de gestación con la mitad de su dieta normal mostraron un desarrollo normal del feto, en contraste con un severo retardo causado por una desnutrición al continuar las madres con dicha dieta en período de lactancia, en el cual se observó un decremento del tamaño y contenido de ADN del cerebro, que fue relativamente pequeño (Patel y col., 1973). Por lo que la desnutrición durante los primeros 21 días de vida en ratas afecta la síntesis de proteínas, neurohormonas, la actividad de enzimas involucradas en el metabolismo de ARN y proteínas y la actividad de la acetilcolinesterasa (Winick, 1966).

En la valuación del estudio de la desnutrición y desarrollo cerebral, el peso representa una útil herramienta; tal medida refleja una vista global del desarrollo cerebral más que un cuadro detallado de aspectos funcionales y estructurales. Aún cuando el peso de órganos es una medición cualitativa para ser aplicada al cerebro, provee una idea sobre los efectos de

desnutrición contra lo que pueda ser encontrado en mediciones más finas (Forbes y col., 1977). También, la desnutrición afecta la síntesis macromolecular del cerebro en desarrollo, lo cual da lugar a cambios en el metabolismo de ADN, ARN y proteínas (Gourdon y col., 1973; Wallingford y col., 1979; Ghittoni y Raveglia, 1973; Patel y col., 1973; Meberg, 1981; Hillman y Chen, 1981; Nowack y Munro, 1977).

El contenido de ADN ha sido extensamente usado en estudios de desnutrición (Fish y Winick, 1969; Winick, 1976; Morgane y col., 1978; Hawrylewinkz y Kissane, 1980), ya que representa en forma indirecta el número de células que existen en un tejido; el uso de ADN como parámetro en la medición del crecimiento del cerebro asume que la cantidad de éste es constante en todas las células diploides; existen muy pocas células poliploides en el cerebro; y la técnica de medición de este no es perturbada por otros compuestos presentes, lo que proporciona alta confiabilidad (Winick y Noble 1966; Shoemaker y Bloom 1977). También las

mediciones de ARN y proteínas han sido de gran importancia en diversos estudios encaminados a conocer los efectos de la mal nutrición en el cerebro (Avitabile y col., 1981), una relación baja ARN/proteína indica una disminución en la actividad metabólica del cerebro aunque estas mediciones se lleven a cabo en regiones específicas o en mediciones totales del mismo (Shoemaker y Bloom, 1977; Kulkarni y Gait, 1982).

Datos recientes indican que existe una correlación en cuanto a peso cerebral y peso corporal y puede ser perturbada por desnutrición (Morgane, y col., 1978).

La malnutrición puede afectar ciertas regiones del cerebro más que otras, dependiendo de la susceptibilidad local al tiempo que esta se aplique. Por ejemplo, en el nacimiento, el cerebro de la rata contiene 50% de su composición final de células y casi todas sus neuronas, y alcanza su población total alrededor de los 21 días, a esta edad el cerebelo contiene el 50% del contenido de

ADN total del cerebro, mientras tanto el tallo cerebral alcanza su población total un poco antes (Nowack y Munro, 1977).

La inmadurez relativa del cerebelo se considera como el mayor déficit celular que ocurre en esta región cerebral después de la malnutrición posnatal (Wallingford y col., 1981).

No obstante son necesarios futuros estudios sobre los efectos de la malnutrición en el desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC) (Fig. No. 1).

El uso de un modelo de restricción proteica crónica puede reflejar con mejor fidelidad que otros modelos de restricción el tipo de desnutrición que se observa en algunos grupos de la población del país como es el caso de los mayas, donde los padres sufren de desnutrición al igual que los hijos desde el desarrollo intrauterino, durante la lactancia y esta continúa en forma generacional.

En el presente trabajo fueron medidos los ácidos nucleicos y proteínas en diferentes regiones del cerebro (diencéfalo, tallo cerebral, cerebelo y telencéfalo) de ratas cuyas madres fueron sometidas a una dieta deficiente en proteínas (8%) desde cinco semanas previas al apareamiento y durante la gestación y lactancia; y el establecimiento de una comparación con las determinaciones que fueron practicadas en ratas cuyas madres se alimentaron durante los mismos períodos con una dieta de contenido normal de proteínas (23%), con objeto de conocer en qué etapa del período de lactancia resultan mas afectadas las regiones mencionadas bajo la dieta hipoproteica crónica.

EVENTOS EN EL CEREBRO

EFECTOS DE MALNUTRUCION

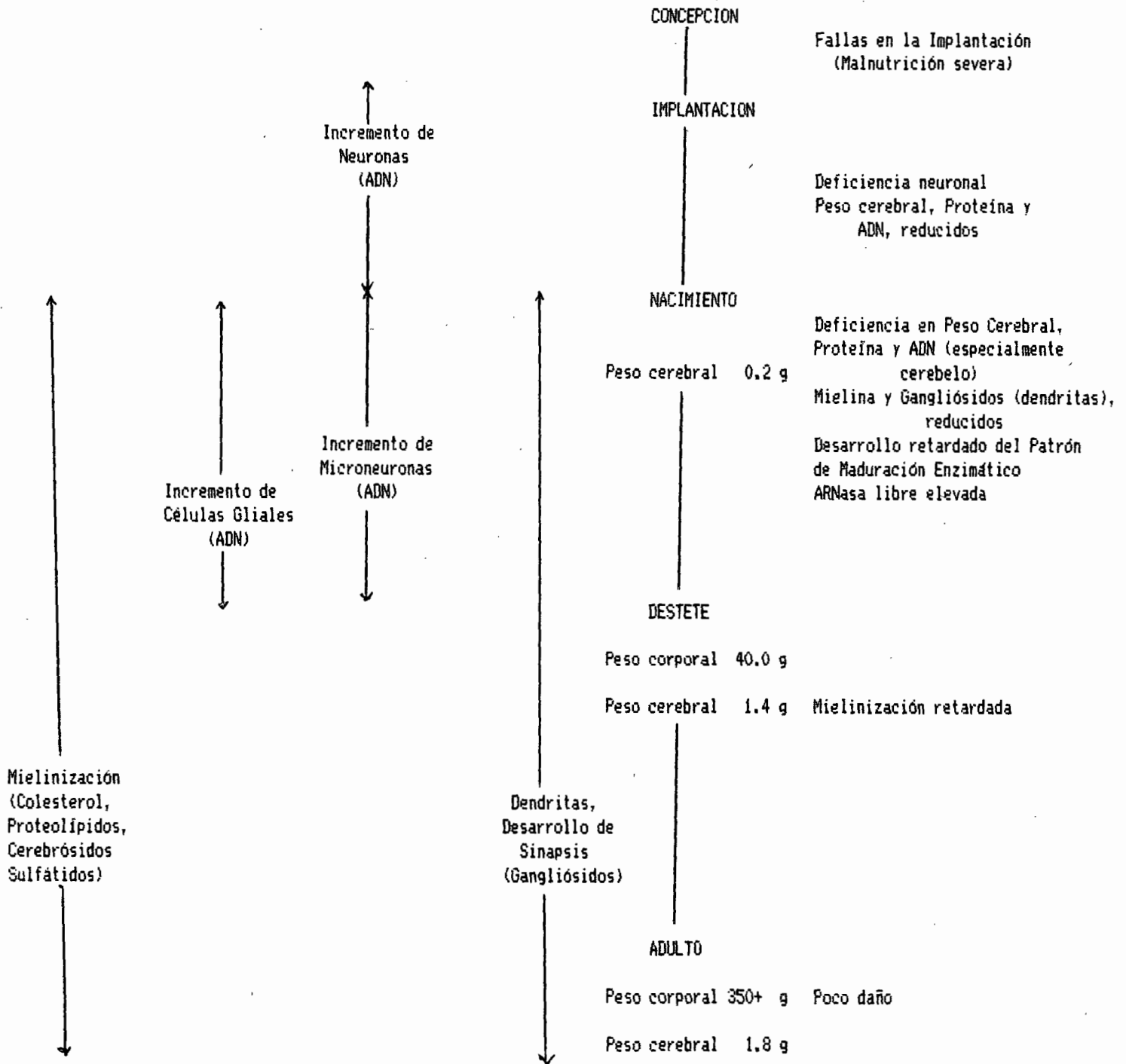


Fig. No. 1. Cambios en el Desarrollo del Cerebro de Rata desde la Concepción al Estado Adulto y los efectos de la Malnutrición a diferentes estadios de Crecimiento.

OBJETIVO GENERAL

Conocer los efectos de la restricción proteica en cuatro regiones del Sistema Nervioso Central de la rata, durante el período de lactancia, empleando un modelo de malnutrición aplicado a las madres desde antes del apareamiento.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar los periodos de mayor vulnerabilidad, de las cuatro regiones (cerebelo, tallo cerebral, diencefalo y telencefalo), del Sistema Nervioso Central a una restricción proteica crónica.
2. Medir el contenido de ácidos nucleicos y proteínas en diversas regiones del encéfalo de ratas sometidas a dieta hipoproteica.

HIPOTESIS

El uso de una restricción proteica crónica , permitirá una mejor discriminación de los periodos de mayor vulnerabilidad del Sistema Nervioso Central de las ratas en desarrollo.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 60 ratas hembras nuliparas, de la cepa Sprague Dawley de aproximadamente 60 días de edad y aproximadamente 200 g de peso corporal, y 20 ratas macho de la misma cepa de alrededor de 5 meses de edad, los especímenes fueron adquiridos del Bioterio de la Unidad de Investigaciones Biomédicas de Occidente del IMSS y se mantuvieron en condiciones de bioterio con un fotoperíodo de 12 horas luz a una temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ con el 40 a 50% de humedad relativa ambiental.

Las ratas hembras fueron subdivididas en dos grupos de acuerdo a su dieta:

El grupo experimental consistió de 40 ratas alimentadas con una dieta hipoproteica (8% de proteínas).

El grupo Control, de 20 ratas alimentadas con una dieta normal de 23% de contenido proteico.

Ambas dietas fueron elaboradas en base a un alimento comercial para roedores. La tabla I muestra los componentes de cada dieta.

El agua y el alimento fueron proporcionados ad libitum desde cinco semanas previas al apareamiento, mismo que se realizó con ratas macho alimentadas con dietas normales; para tal efecto, se colocaron 3 hembras por un macho en cada jaula.

El día 0 de gestación fue determinado por la presencia de espermatozoides en el frotis de la citología vaginal.

Se continuó con el mismo tipo de alimentación durante la gestación y lactancia hasta el destete a los 21 días de edad.

Las crias obtenidas de ambos grupos fueron sacrificadas por

decapitación al nacimiento y a las edades de 3, 7, 14 y 21 días registrándose simultáneamente su peso corporal y encefálico.

Para las determinaciones de ácidos nucleicos y proteínas se utilizó el encéfalo completo de los recién nacidos mientras que en los lactantes se disecó en 4 regiones: a) cerebelo, b) tallo cerebral, c) diencefalo y d) telencefalo.

Los encéfalos y las distintas regiones obtenidas fueron pesadas y homogeneizadas en cloroformo:metanol (1:1) para posteriormente extraer y cuantificar ADN, ARN y proteínas, de acuerdo con los métodos de Burton y col., 1956; Dishe y col., 1953; y Lowry y col., 1951, respectivamente (Diagrama).

TABLA NO. 1. COMPONENTES DE LAS DIETAS SUMINISTRADAS (g/100 g de dieta).

COMPONENTES	DIETA I	DIETA II
	(gramos)	
Alimento para roedores	91.45	31.70
Aceite vegetal	8.55	15.70
Sales minerales	---	4.00
Vitaminas	---	2.00
Sacarosa	---	14.54
Glucosa	---	13.80
Dextrina	---	18.26
<hr/>		
TOTAL	100.00	100.00
% Proteínas	23.0	8.0
Valor calórico (Kcal/100 g)	349.16	425.8

RESULTADOS

El grupo control, muestra un aumento importante de esta variable entre los siete y catorce días alcanzando un peso de 56.83 g a los 21 días; en el grupo restringido se observa un desarrollo similar al grupo control aunque en niveles por debajo de este. De los siete a los catorce días, el aumento de peso corporal del grupo restringido no mostró el patrón de incremento en peso que el observado en los controles, obteniendo un peso de 30.3 g al final del experimento (Fig. No. 2).

Los registros del peso cerebral se muestran en la Figura No. 3, ambos grupos mantuvieron un patrón de incremento en peso similar desde el nacimiento hasta los siete días. Es notable el incremento en el peso cerebral que registró el grupo control de los 7 a los 14 días (de 0.60 a 1.14 g) con un peso a los 21 días de 1.39 g.

En la Figura No. 4 se comparan los contenidos de ADN, ARN y proteínas, alcanzados por los recién nacidos. Se observan niveles de 3.12 mg. de ADN por gramo de tejido encefálico en los controles, contra 1.97 mg/g tej. de los restringidos. Los niveles de ARN fueron de 8.98 y 5.35 mg/g tej., respectivamente. Finalmente, el contenido de proteínas del grupo control fue de 64.95 mg/g tej. y 44.22 mg/g tej. para los restringidos.

En la Figura No. 5 se esquematizan los niveles de ADN con los grupos control y restringido a los tres días de desarrollo, en las cuatro regiones estudiadas. Se observa claramente que la región cerebelar muestra un mayor contenido de ADN (41.7 %) en comparación con su grupo restringido, como con el resto de las regiones estudiadas.

Los niveles de ADN a los siete días de registro en las distintas regiones se observan en la Figura No. 6. Como en el caso anterior, la región cerebelar mostró los mayores niveles en el

contenido de ADN, siendo éstos de 8.63 y 6.10 mg/g tej. para el grupo control y restringido, respectivamente. El contenido de ADN en el grupo restringido, en esta región, representa el 70.7% con respecto al grupo control. Sin embargo, una diferencia aún mas notable se observa en el diencéfalo, donde el contenido de ADN de los restringidos representa tan sólo el 38.3% respecto a su grupo control.

La Figura No. 7 muestra los resultados de las mediciones de ADN efectuadas en las cuatro regiones mencionadas, particularmente en la región cerebelar el grupo restringido muestra un contenido mayor de ADN con respecto a su grupo control, 4.83 mg/g tej. contra 1.09 mg/g tej., respectivamente; esto representa una diferencia del 343.1% de los restringidos sobre los controles.

Por otra parte, en el tallo cerebral el nivel de ADN en los restringidos (2.05 mg/g tej.) es superior en un 36.7% con respecto a los controles (1.5 mg/g tej.).

Finalmente, a los 21 días de edad se observa un mayor contenido de ADN en todas las regiones cerebrales en el grupo control respecto al restringido (Fig. No. 8); principalmente en la región cerebelar, donde el contenido de ADN en los restringidos (1.32 mg/g tej.) representa solo un 5.6% respecto a los controles. En el tallo cerebral, un 60% de nivel de ADN se presentó en los restringidos con respecto a su control. Una diferencia de 5.7% se observó en la región del diencéfalo entre ambos grupos. En el telencéfalo, el grupo restringido presentó 14.8% de nivel de ADN con respecto al grupo control.

Los contenidos de ARN a los tres días de desarrollo se muestran elevados en los controles con respecto a los restringidos, siendo mas evidente esta diferencia en la región cerebelar; aquí el grupo restringido presentó el 49.7% de contenido de ARN con respecto al grupo control. En tallo cerebral se registró un 39.9% menos en los restringidos. La mínima diferencia se registró en diencéfalo, en los restringidos con un 3.5% menos de ARN.

Finalmente, en el telencéfalo, el grupo restringido presentó un 88.4% de ARN con respecto al grupo control (Fig. No. 9).

A los siete días de edad se nota una marcada diferencia en la región del diencéfalo donde los niveles de ARN en los restringidos se encuentran disminuidos en un 59.1% mientras que en tallo cerebral esta diferencia es del 24.3%; por el contrario, en telencéfalo, los restringidos presentan un incremento del 360.9% y en cerebelo un 25.7% (Fig. No. 10).

Los niveles de ARN, a los 14 días de edad, son del orden de 6.1% mayor en restringidos en la región cerebelar, 23.2% en tallo cerebral, 56.8% en diencéfalo y 6.4% en telecéfalo (Fig. No. 11).

Al final del experimento todos los controles registraron niveles superiores a los restringidos, principalmente en el telecéfalo, donde la diferencia fue de 64.6%. En el cerebelo, el grupo

control tuvo un 26.3% más de ARN sobre restringidos; en tallo cerebral un 37.4% y en diencéfalo un 10.6% (Fig. No. 12).

En la Figura No. 13, a los tres días de edad, se observa en todos los casos un mayor nivel de proteínas en el grupo restringido sobresaliendo la región del tallo cerebral donde los niveles se encuentran 66.6% por encima del grupo control, en telencéfalo, un 56.7% y, finalmente, en cerebelo y diencéfalo, un 18.2% y 34.8%, respectivamente.

La región del cerebelo y tallo cerebral, a los siete días muestran mayores niveles de proteínas en los grupos controles, 19.3% y 55.8%, respectivamente. Sin embargo, tanto en el diencéfalo como en el telencéfalo, estos niveles se mantienen superiores en los grupos restringidos (Fig. No. 14), 14.7% en el primero y 195.4% en el segundo.

Un incremento importante en el contenido de proteínas se observa

tanto en el cerebelo como en el diencéfalo, a los 14 días en los grupos restringidos con respecto a los controles, donde los niveles mostraron, en cerebelo, un 128.6%, y en diencéfalo, un 250.0% (Fig. No.15). En tallo cerebral y telencéfalo, se observa que los niveles de proteínas en los grupos restringidos permanecen por debajo de los controles, un 16.8% en tallo cerebral y un 42.1% en telencéfalo.

Por último, a los 21 días (Fig. No. 16), todas las regiones mostraron mayor nivel de proteínas en los grupos control, con una clara diferencia con los restringidos, 73.0% en cerebelo, 66.3% en tallo cerebral, 49.3% en diencéfalo y 89.6% en telencéfalo.

DISCUSION

Mediante la experimentación con diversos modelos de restricción proteica en animales se ha observado que al nacimiento existe un peso corporal similar en controles y restringidos, sin embargo, a medida que el desarrollo postnatal toma lugar, se va marcando la superioridad en peso del grupo control, esta diferencia es más notoria generalmente a partir de los 15 días de vida.

Forbes y col. (1977), empleando un modelo de malnutrición crónica y Griffin y col. (1977), con un modelo de aumento de camada, han encontrado diferencias en la acumulación de peso corporal en cada uno de los grupos experimentales entre los 3 y 5 días de edad, haciéndose más evidente ésta diferencia en periodos posteriores a la lactancia y a través de la vida adulta del individuo.

En la Figura No. 2 se observa que los pesos registrados al nacimiento entre los grupos control y restringido, existe muy

poca diferencia, esta se va acentuando a medida que el desarrollo toma lugar. Desde los 7 días existe un considerable aumento en peso del grupo control que continúa hasta los 21 días, mientras que los valores del grupo restringido siempre están por debajo.

Aparentemente, el período comprendido entre los 7 y 21 días es crítico en el desarrollo corporal de los individuos, y el grupo restringido es incapaz de alcanzar los valores normales, debido a la baja ingestión proteica por la disminución en cantidad de leche suministrada por las madres con desnutrición crónica, de acuerdo con los estudios realizados por Muller (1946) y Winick (1976).

Por lo que respecta al peso cerebral se visualiza que al nacimiento existe una diferencia mínima entre ambos grupos, esta fue señalada por Forbes y col. (1977), utilizando el mismo modelo de restricción. En este estudio no se observó ninguna diferencia substancial en los grupos estudiados hasta el día 14

de desarrollo postnatal que continúa en un grado ligeramente menor hasta los 21 días, lo que concuerda con lo reportado por Griffin (1977).

El tipo de desarrollo cerebral mostrado por el grupo control en este estudio va de acuerdo con lo descrito por Dobbing y Sands (1971), donde se advierte que el período comprendido desde el nacimiento, durante la lactancia y hasta los 21 días es crítico en el desarrollo cerebral, y que una restricción alimenticia en ese lapso, puede afectar el crecimiento de este órgano de manera decisiva como se muestra comparativamente en la Figura No. 3.

Los contenidos de ácidos nucleicos y proteínas, son definitivamente inferiores en el grupo restringido de neonatos (Fig. No. 4). Altman y col. (1970) muestran que cuando las madres reciben durante la gestación una dieta severa (5% de proteína), puede ocurrir reabsorción de fetos o nacimiento de crías muertas; con una dieta de 10% de proteína estos efectos no

se han observado, lo que puede significar que la reducción de proteína en un 8% desde antes del apareamiento como la empleada en éste trabajo, permite la implantación de embriones pero además da lugar a una limitación en la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas en los neonatos.

Como señala Morgane y col. (1977), cada región del encéfalo posee su período de desarrollo y maduración propios. De acuerdo con los resultados obtenidos de este estudio, puede asumirse que en el cerebelo el daño causado por la malnutrición es altamente significativo tanto en la formación de células neuronales como de células gliales. El aumento en el contenido de ADN en el grupo control de los 3 a los 7 días se atribuye a una división neuronal, mientras que el aumento de los 14 a los 21 días es debido a la división de células gliales, de acuerdo a lo reportado por Nowack y Munro (1977).

De igual forma, a los 7 días (Fig. No. 6), se muestra en el

diencéfalo, un incremento en el contenido de ADN en el grupo control, el cual puede atribuirse a una división neuronal, y que finaliza ésta a los 14 días. Es aquí donde el efecto de malnutrición se observó claramente cuando el grupo restringido presentó niveles de ADN del 61.7% menores a los siete días.

De acuerdo con lo mencionado por Winick (1976), Nowack (1977) y Morgane (1978), la división celular en el tallo cerebral finaliza a los 14 días de desarrollo postnatal. Los resultados obtenidos muestran que durante éste período el grupo restringido se afectó un 30.4% con respecto al control a los 7 días. Sin embargo, el grupo restringido mostró a los 14 días una elevación de niveles de 36.7% el cual desciende nuevamente a los 21 días. El incremento en los niveles de ADN en el grupo restringido entre los 7 y 14 días indica que muy posiblemente el desarrollo del tallo cerebral en el grupo restringido tiende a alcanzar los niveles normales haciendo uso de la energía corporal, postergando el desarrollo de otros órganos; de acuerdo a la plasticidad del SNC descrita por Morgane y col. (1978).

El aparente descenso que se observa de los 3 a los 14 días en los niveles de ADN en el telencéfalo puede ser explicado si se toma en cuenta que en ese mismo período se está llevando a cabo una activa división celular en las tres regiones ya mencionadas, y los recursos de este órgano (el encéfalo) están dirigidos a tomar parte en esos eventos; posteriormente, a los 14 días los niveles de ADN en esta región continúan decreciendo por efectos de la malnutrición hasta el final del experimento, con un 85% menos que el grupo control, el cual contenía su máximo nivel de ADN. Esto concuerda con lo establecido por Winick y col. (1976), donde señalan que la división celular en el telencéfalo finaliza alrededor del día 21 de desarrollo.

Respecto a los contenidos de ARN y proteínas, Griffin y col. (1977), menciona que el decremento de estos parámetros en la región cerebelar está asociado a la reducción del número celular.

Los resultados aquí obtenidos van de acuerdo a lo mencionado

anteriormente, sin embargo, existe un periodo entre los siete y 14 días en el cual se incrementa la síntesis proteica en el grupo restringido debido a un esfuerzo por recuperar un desarrollo normal, no obstante, esta aparente recuperación no fue sostenida ya que al final del estudio el grupo restringido mostró 73% menos ARN y proteínas que los controles, Griffin y col. (1977) menciona que esta recuperación repentina en los individuos malnutridos en la región cerebelar ocurre de los 17 a los 21 días.

En tallo cerebral el contenido de ARN y proteínas disminuye notoriamente por debajo de los controles a los 21 días, el aumento de ARN que se observa entre los 3 y los 14 días en el grupo restringido podría deberse a un intento por alcanzar los niveles mostrados por el grupo control desde los 7 días, sin embargo, este esfuerzo no se logra mantener, ya que tanto el contenido de ARN como de proteínas decae por debajo de los controles a los 21 días de edad.

En el diencéfalo, se evidencia claramente el daño que sufrió la síntesis de proteínas en el grupo restringido, y se pone de manifiesto la plasticidad del cerebro en el aumento que exhiben los niveles de ARN y proteínas en este mismo grupo entre los 7 y 14 días, pero al igual que en otras regiones, aún después de esta considerable diferencia, estos niveles descienden bruscamente por debajo del grupo control, el cual va aumentando paulatinamente como indicativo de un crecimiento celular en la región y una restricción de este crecimiento en los individuos sometidos a malnutrición.

CONCLUSIONES

1. Al nacimiento, no se evidencia una discrepancia entre ambos grupos, en los pesos corporales, sino hasta los siete días de edad.
2. Al nacimiento, ya es posible observar los efectos del modelo de restricción crónica aquí empleado ya que las concentraciones de Acidos Nucleicos y proteínas son inferiores en el grupo restringido.
3. La plasticidad del cerebro se pone de manifiesto en cerebelo, tallo cerebral y diencéfalo a los 14 días de edad, tiempo en que termina la neurogénesis de estas regiones.

4. Con el modelo de malnutrición crónica aplicado en este trabajo se pudo visualizar claramente la vulnerabilidad de las regiones cerebrales estudiadas.

BIBLIOGRAFIA

Altman, J.; Das, G.D. y Sudarshan, K. (1970). The influence of nutrition on neural and behavior development. I. Critical review of some data on the growth of the body and the brain following dietary deprivation during gestation and lactation. Dev. Psychobiol., 3: 281-301.

Avitabile, M.; Serra, I.; Mathias, A.P. y Giufrida, A.M. (1981). Effect of undernutrition on RNA synthesis in various regions of developing rat brain. Bull. Mol. Biol. Med., 6: 32-43.

Angulo-Colmenares, A.G.; Vaughan, D.W. y Hinds, J. (1979). Rehabilitation following early malnutrition in the rat; body weight and cerebellar cortex development. Brain Res., 169: 121-138.

Bass, N.H.; Netsky, M.G.; Young, E. y Va, C. (1970). Effect of neonatal malnutrition of developing cerebrum. Arch. Neural., 23: 289-300.

Berlinger, G. (1977). Medicina y Política. Ediciones Circulo de Estudios, 15-18.

Bernoche, G. y Scherini, E. (1980). Citochemical data on DNA y protein nuclear content during the prenatal cerebellar histogenesis in the rat. Effects of maternal protein malnutrition. Cell. Mol. Biol., 26: 405-413.

Burton, K. (1956). A study of the conditions and mechanisms of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of desoxirribonucleic acid. J. Chem., 62: 313-323.

Chávez, A. (1981). Nutrición y Desarrollo Cerebral. Inf. Cient. Tec., 3 (46): 4-8.

Del Angel, A.R.; Tapia-Arizmendi, G. y Feria-Velasco, A. (1984). Effects of food restriction during lactation on postnatal development of rat cerebellum. Correlative biochemical and structural study. *Nut. Rep. Int.*, 30 (1): 95-109.

Dickerson, J.W.T. (1979). Protein deficiency and the Brain. In: Food and Health Science and Technology. G.G. Birch y K.J. Parker Eds., Applied Science Publishers.

Dishe, A. (1953). The nucleic acid. Ed. Chargaff, E. y Davison, J.N. Vol. 1 Academic Press.

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

Fish, I. y Winick, M. (1969). Cellular growth in various regions of developing rat brain. *Pediatr. Res.*, 3: 407-412.

Forbes, W. B.; Tracy, C.; Resnick, O. y Morgans, P. (1977). Effects of maternal dietary protein restriction on growth of the brain and body in the rat. *Brain Research Bulletin*, 2, 131-135.

Forsum, E.; Gorazon, H. y Thilén, M. (1982). Protein evaluation of mixed diets in young adults, growing pigs, and growing rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, 36: 505-513.

Ghittoni, N. y Raveglia, I.F. (1973). Effects of malnutrition and subsequent rehabilitation on the lipid composition of cerebellar cortex and cerebellum of the rat. *J. Neurochem.*, 21: 983-987.

Gourdon, J.; Clo, J.; Coste, C.; Dainat, J. y Legrand, J.

- (1973). Comparative effects of hipotiroidism and undernutrition on the protein and nucleic acid contents of the cerebellum in the young rat. J. Neurochem., 21: 861-871.
- Griffin, W.S.T.; Woodward, D.J. y Chandal, R. (1977). Malnutrition and brain development cerebelar weight, DNA, RNA, Protein and histological correlations. J. Neurochem., 28: 1269-1279.
- Goldstein, R!S!, Hook, J. B., and Bond, J. T. (1979): The effect of maternal protein deprivation on renal development and function in neonatal rats. J. Nutr., 109, 949-957.
- Halas, E.S.; Wallwork J.C. y Sandstead, H.H. (1982). Mild Zinc deficiency and undernutrition during the prenatal and postnatal periods in rats: Effects on weight, food consupcion, and brain catecholamine concentrations. J. Nutr., 112 (3): 542-551.

Hawrylewicz, E.J. y Kissane, J.Q. (1980). The effect of Protein Restriction on Brain Biogenic Amines. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 493-517.

Hillman, D.E. y Chen, S. (1981). Vulnerability of cerebellar development in malnutrition - 1. Quantitation of layer volume and neuron numbers. Neuroscience, 6, (7): 1249-1262.

Kulkarni, A.B. y Gait, D. (1982). Effects of maternal protein deficiency on the brain malnutrition of the rat progenie. Bull. Haffkine Inst., 9 (3): 69-74.

Lowry, O.H.; Rosenbrough, N.J.; Farr, A.L. y Randal, R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-275.

Matsueda, S. y Niiyama, Y. (1982). The effects of Exces Amino Acids on maintenance of pregnancy and fetal growth in rats. J.

Nutr. Sci. Vitaminol., 28, 557-573.

Meberg, S. (1981). Somatic growth and brain development effects of intrauterine malnutrition and hipoxia in mice. Biol. Neonate., 39: 272-284.

Morgane, P.J.; Miller, M.; Kemper, T.; Stern, W.; Forbes, W.; Hall, R.; Bronzino, J.; Kissane, J.; Hawrylewicz, E. y Resnick, O. (1978). The effects of malnutrition on the developing Central Nervous System in the Rat. Neuroscience and Behavioral., 2 (3): 137-230.

Mueller, A.J., y Cox, W.M. (1946). The effect of changes in diet on the volume and composition of the rat milk. J. Nutr., 31: 249-259.

Nowack, T.S. Jr. y Munro, Hamish, N. (1977). Effects of protein caloric malnutrition on biochemical aspects of brain

development. In nutrition and the brain. Richard J. Wurtman and Judith J.W. Wurtman. Vol.2, Raven Express, 194-264.

Patel, A.J.; Balázs, R. y Johnson, A.L. (1973). Effect of undernutrition on cell formation in the rat brain. J. Neurochem., 20: 1151-1165.

Porter, B.J.; Belling, G.B.; McIntosh, G.H.; Hua, C. y Marshal, J. (1982). Retarded fetal brain development resulting from severe dietary iodine deficiency in sheep. Neuropathol. Appl. Neurobiol., 8: 303-313.

Ruz, M.H. (1987). La alimentación de grupos Mayas: Del popol Vuh a nuestros días. Cuadernos de nutrición., 10 (3): 3-15.

Tapia, A.G. (1982). Efecto del retardo en el crecimiento intrauterino sobre la maduración de la corteza cerebelosa de rata. Tesis Maestría. Universidad de Guadalajara, México.

Shoemaker, J.W. y Bloom, F. E. (1977). Effect of undernutrition
brain morphology. En nutrition and the Brain. Richard J.
Wurtman and Judith J.W. Wurtman. Vol.2, Raven Express,
147-187.

Van Geijn, H.P.; Kaylor, W.M.; Nicola, K.R. y Zuspan, F.
(1980). Induction of severe intrauterine growth retardation
in Sprague Dawley rat. Am. J. Obstet. Gynecol., 137-143.

Wallingford, J.C.; Shrader, R. y Zeman, F.J. (1979). Effect
of maternal protein-caloric malnutrition of fetal rat
cerebellar neurogenesis. Neurogen. Prot. Cal. Malnutr.,
545-550.

Wiggings, R.C. (1979). A comparison of starvation models in
studies of brain myelination. Neurochem. Res., 4: 827-830.

Wigglesworth, J.S. (1969). Experimental growth retardation in the

foetal rat. J. Path. Bact., 88: 1-13.

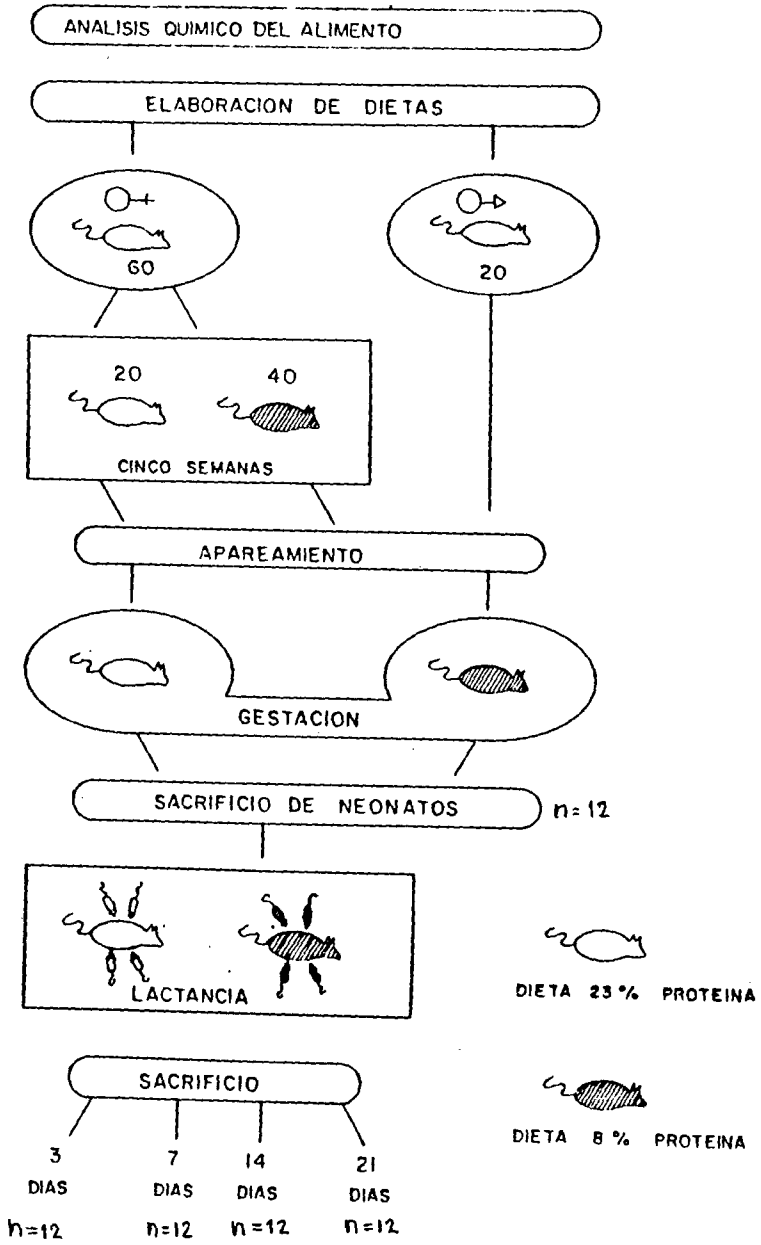
Winick, M. y Noble, A. (1966). Cellular response in rats during malnutrition at various ages. J. Nutrition., 89: 300-306.

Winick, M. (1976). Malnutrition and brain development. Oxford University Press. London.

Yu, M.C. and Amy Yu, W. H. (1977). Ultrastructural Changes in the developing rat cerebellum in the chronic undernutrition. Neuropathol. Appl. Neurobiol., 3: 391-401.

Zamenhof, S.; Van Martheus, E. y Grawel, L. (1971). DNA (cell number) and protein in neonatal brain: Alteration by timing of maternal dietary protein restriction. J. Nutrition, 101: 1265-1270.

DISEÑO EXPERIMENTAL



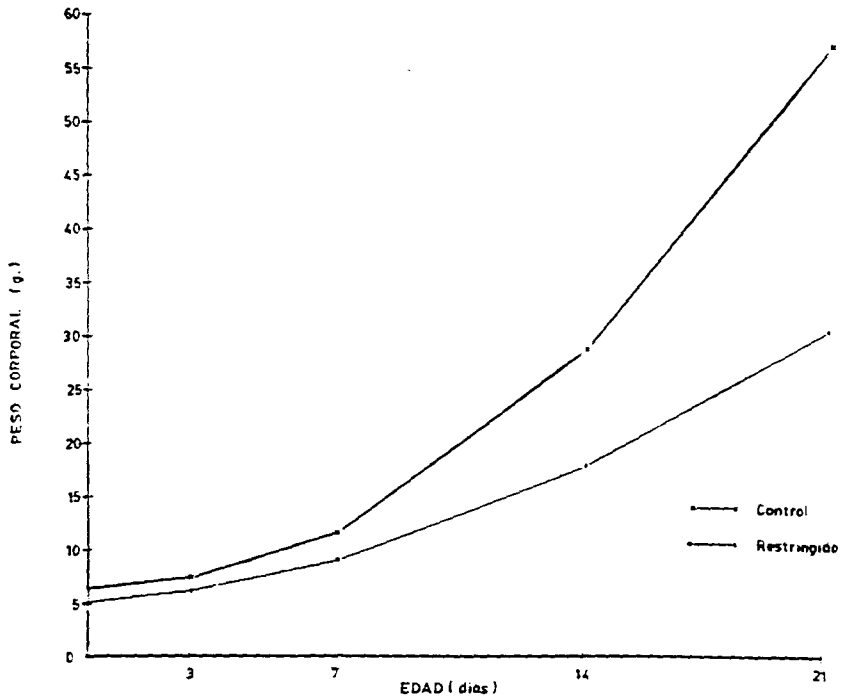


FIG. 2 *Peso corporal de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a distintas edades.*

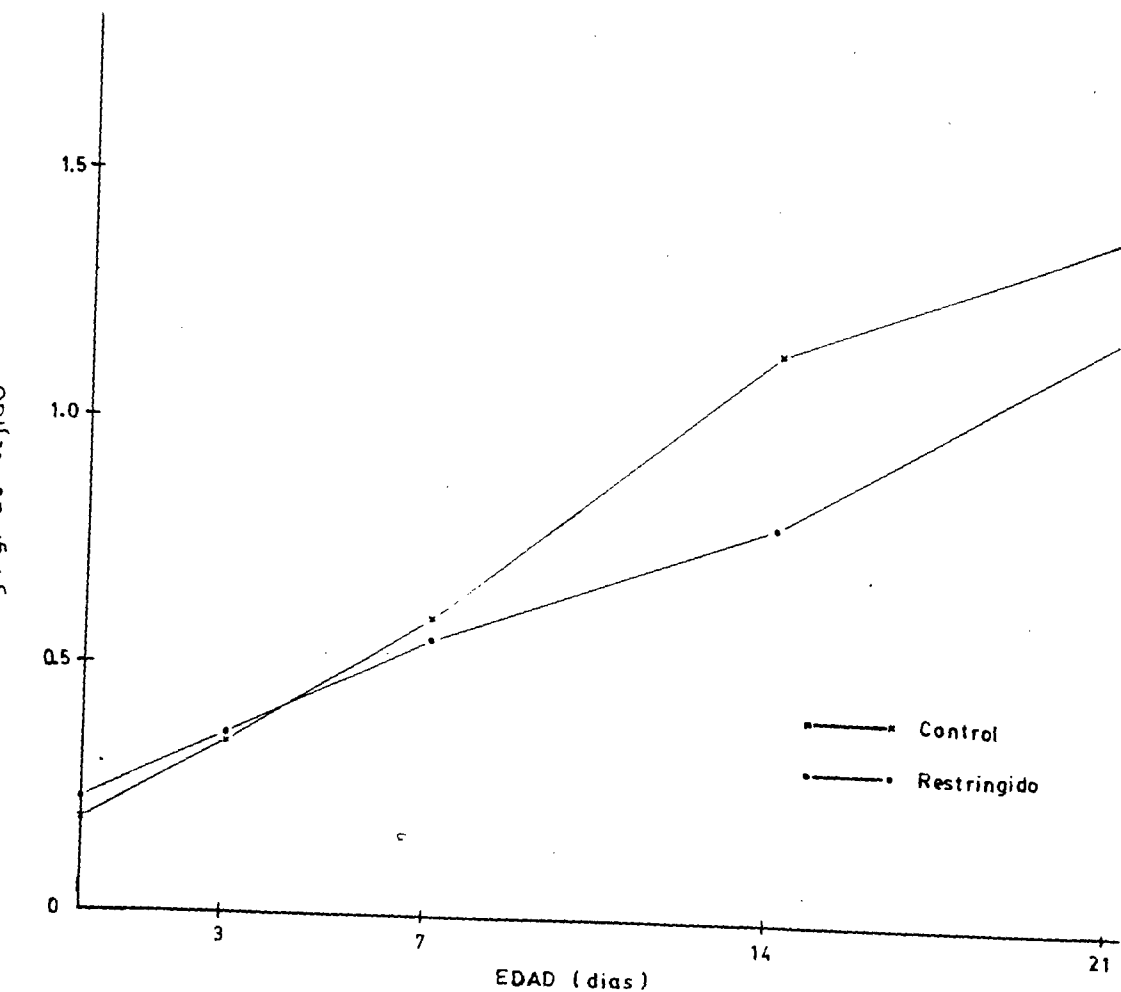


FIG.3 Peso encefálico de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal en distintas edades.

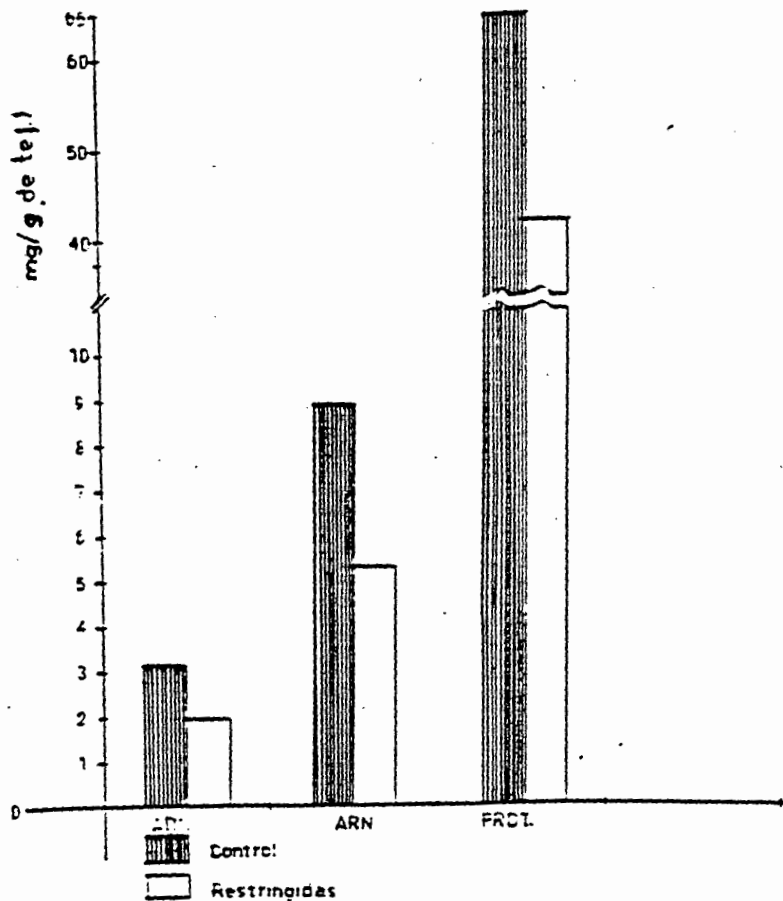


FIG. 4 Contenido de ADN, ARN y proteínas en encéfalo de recién nacidos con desnutrición crónica y alimentación normal.

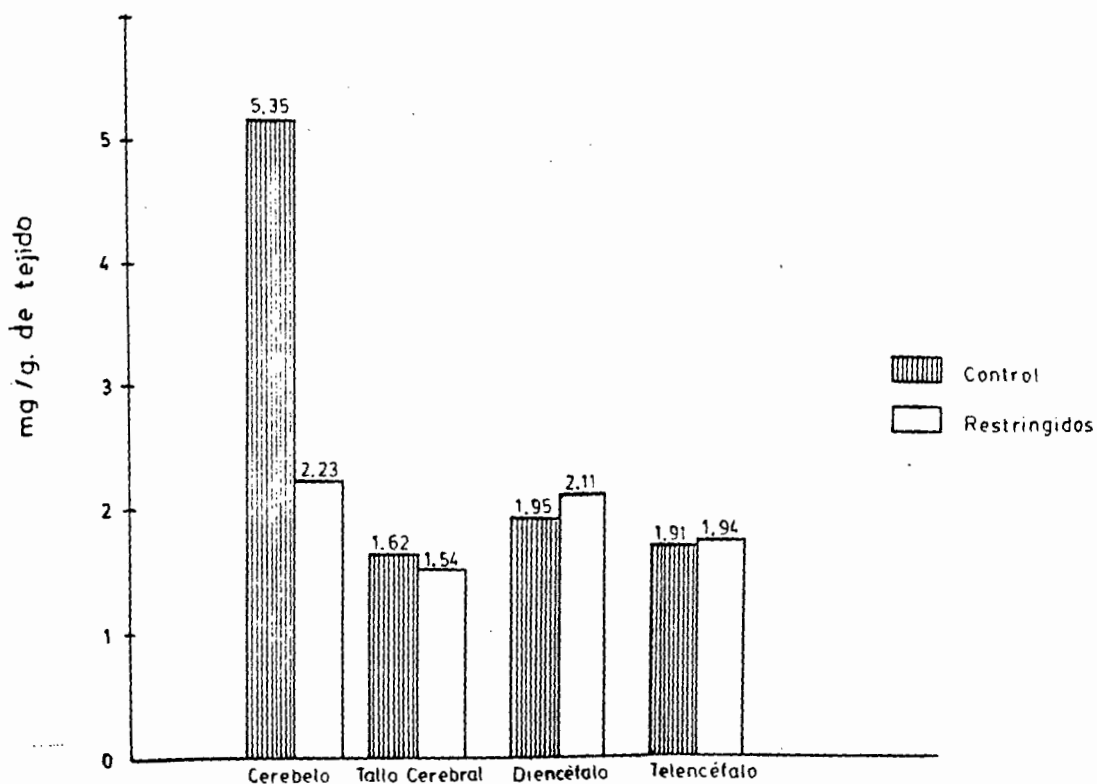


FIG.5 Contenido de ADN en cuatro regiones del encéfalo de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los 14 días de desarrollo.

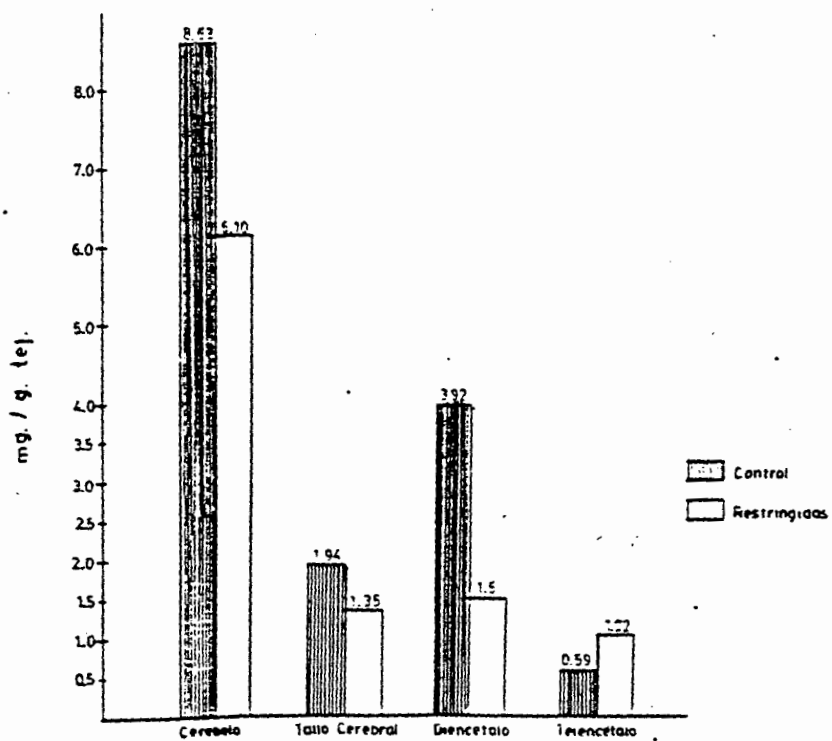


FIG. 6 *Contenido de ADN en cuatro regiones del encéfalo y lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los siete días de desarrollo.*

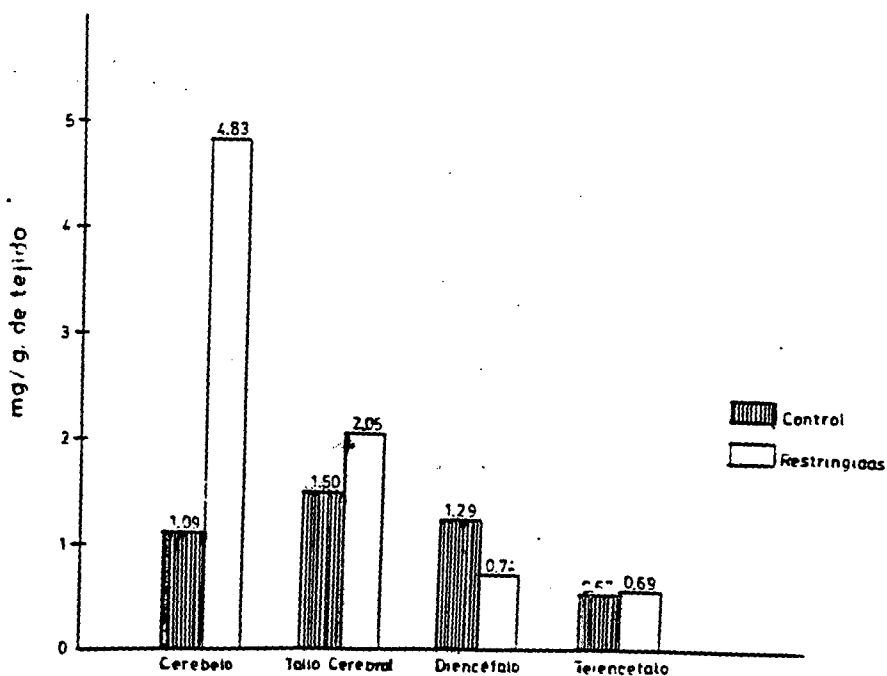


FIG. 7 *Contenido de ADN en cuatro regiones del encéfalo de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los catorce días de desarrollo.*

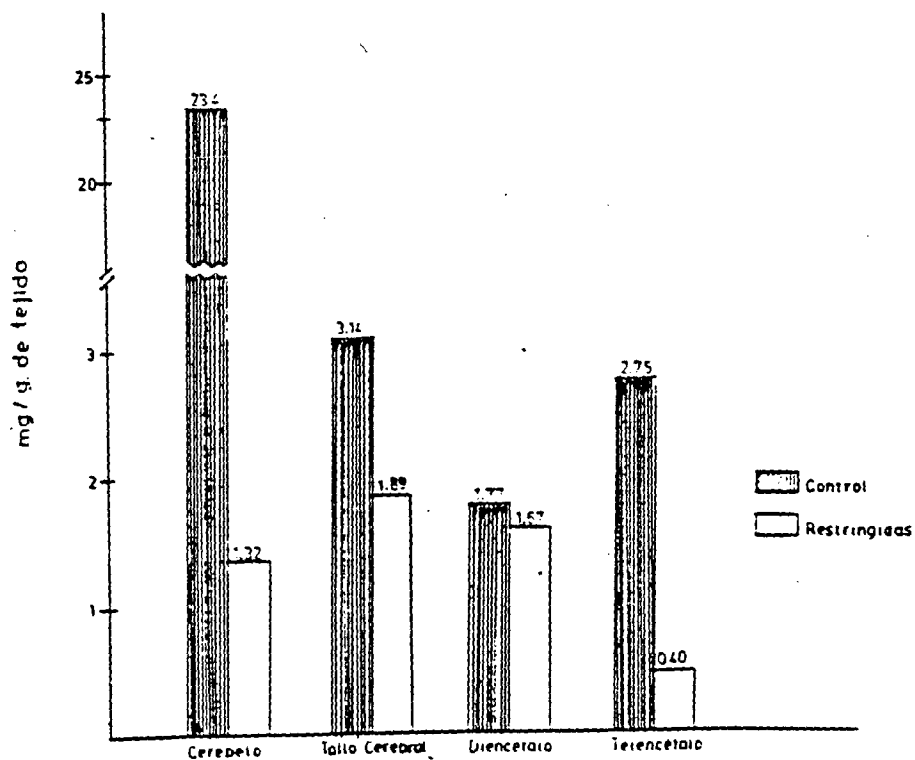


FIG. B Contenido de ADN en cuatro regiones de cerebro de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los veintiun días de desarrollo.

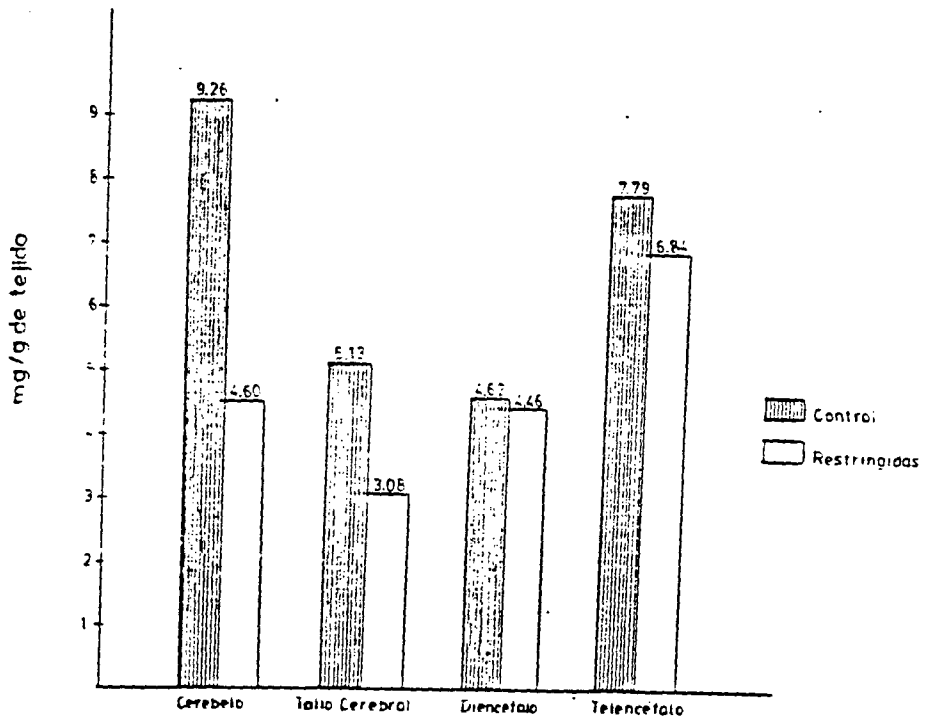


FIG. 9 Contenido de ARN en cuatro regiones del encéfalo de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los tres días de desarrollo.

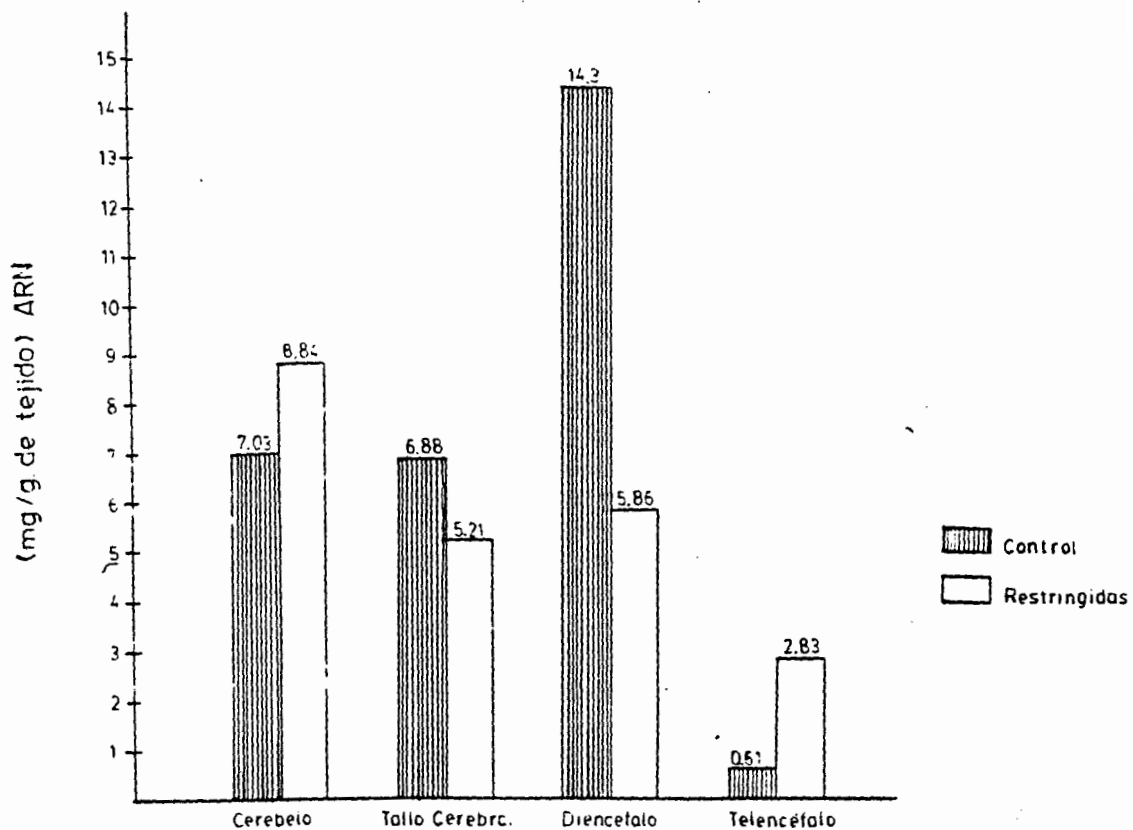


FIG. 10 *Contenido de ARN en cuatro regiones del encéfalo de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los siete días de desarrollo.*

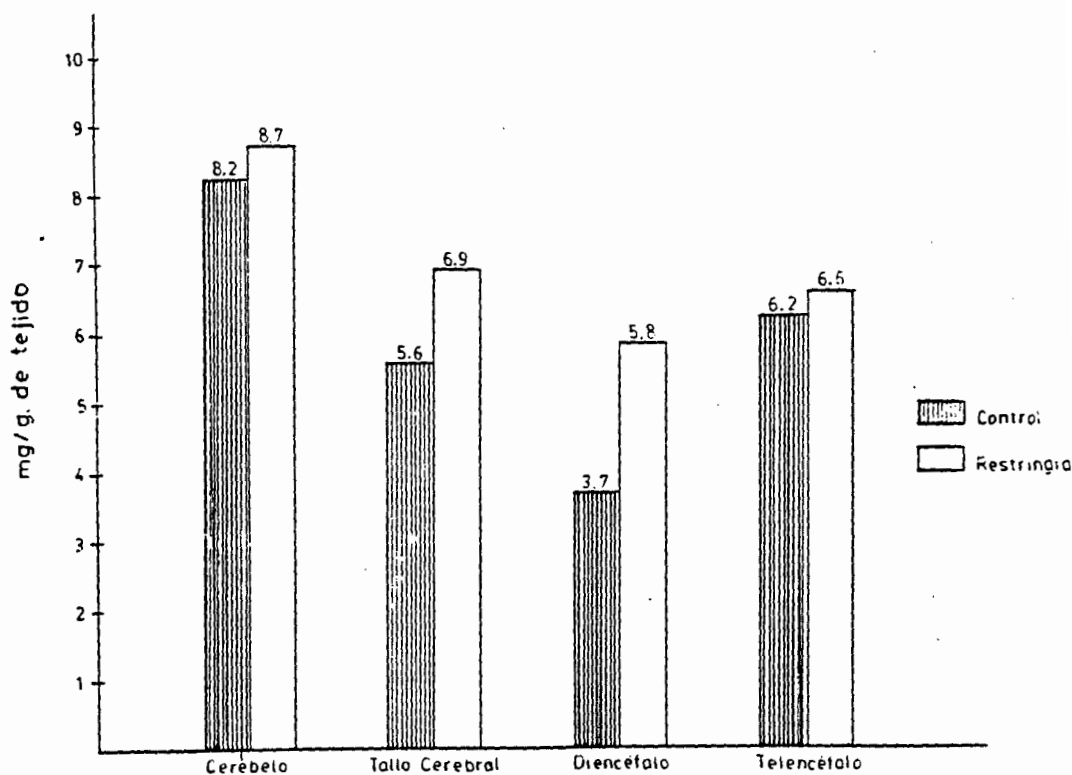


FIG. II *Contenido de ARN en cuatro regiones del encéfalo de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los 14 días de desarrollo.*

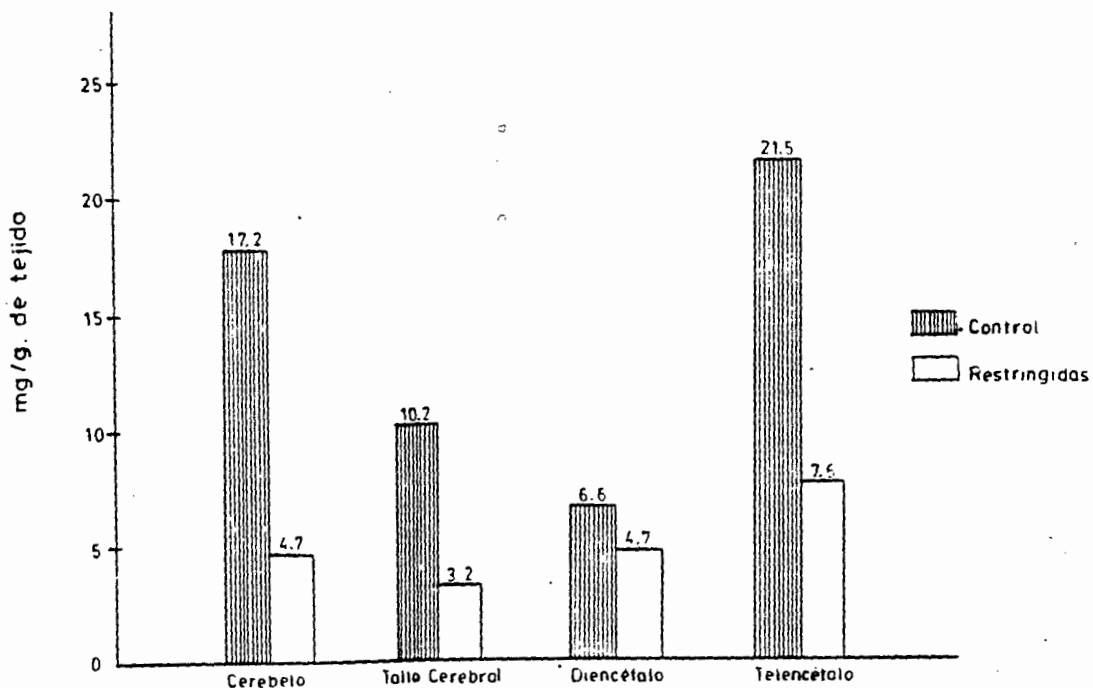


FIG.12 *Contenido de ARN en cuatro regiones del encéfalo de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los 21 días de desarrollo.*

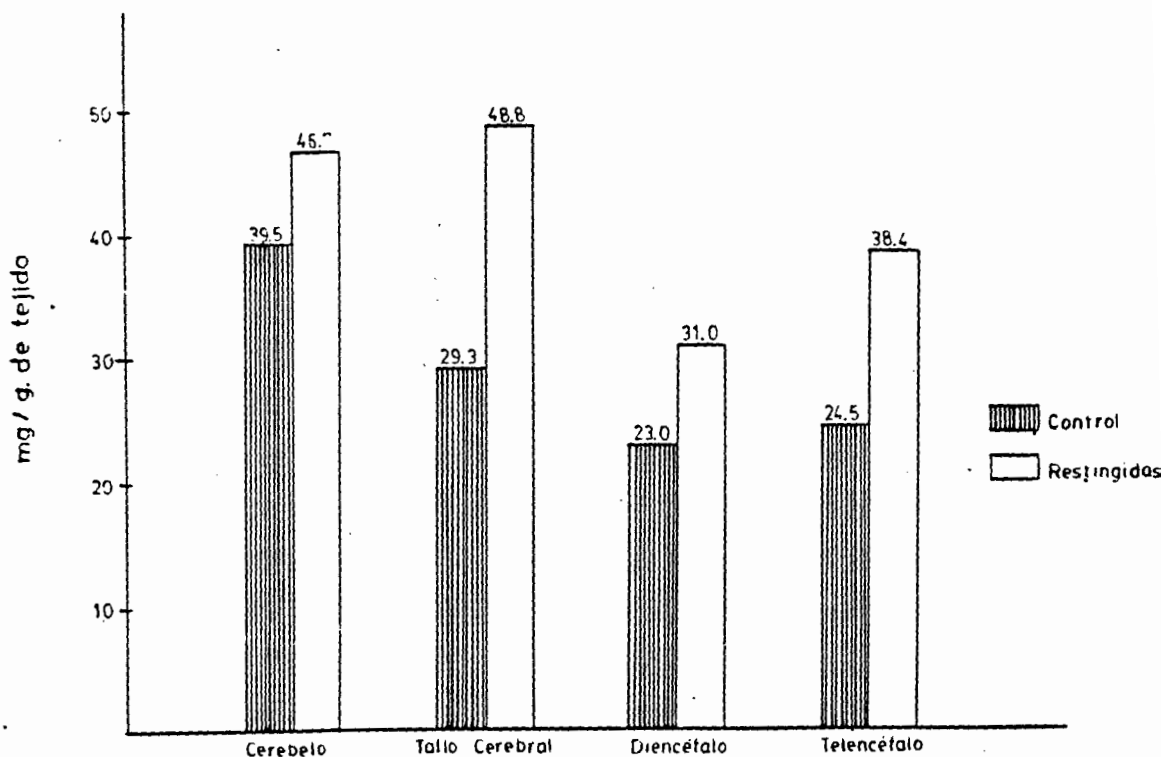


FIG. 13 *Contenido de proteínas en cuatro regiones del encéfalo de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los 3 días.*

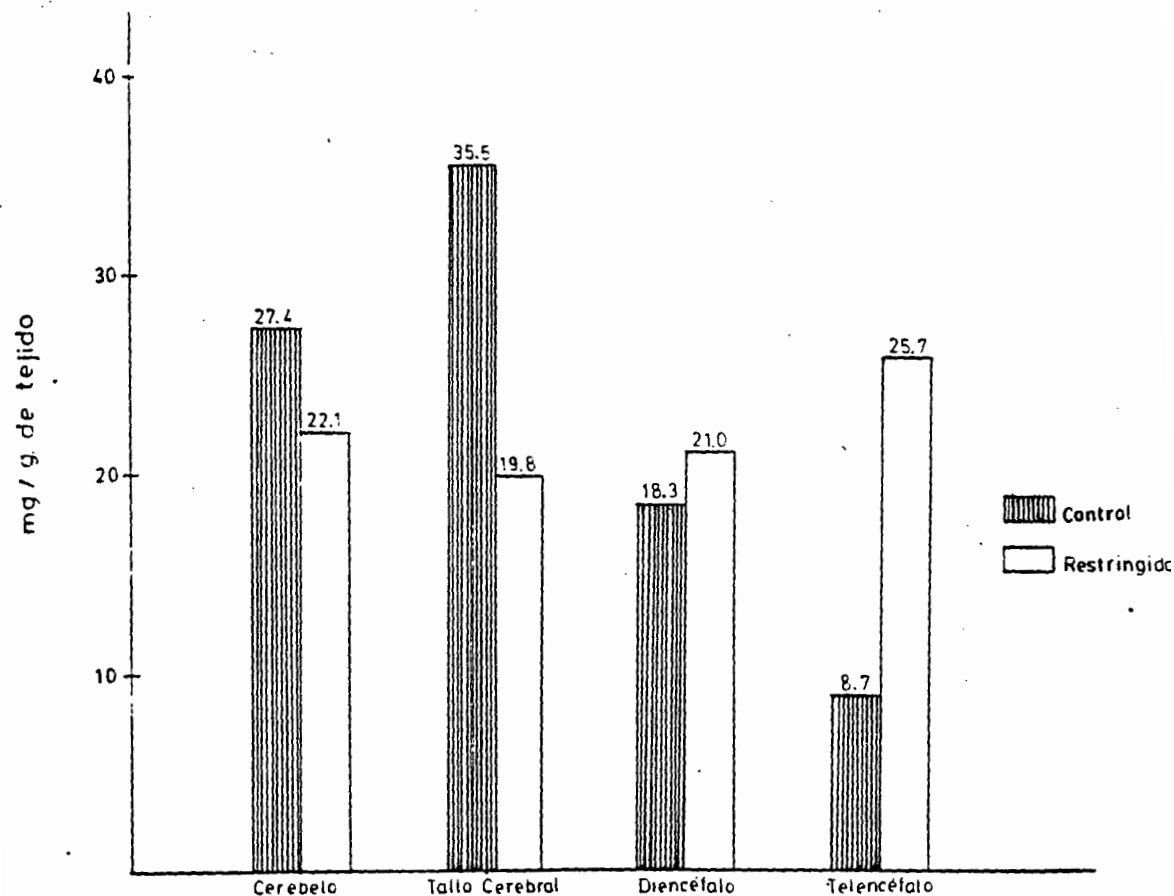


FIG.14 *Contenido de proteínas en cuatro regiones del encéfalo de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los 7 días de desarrollo.*

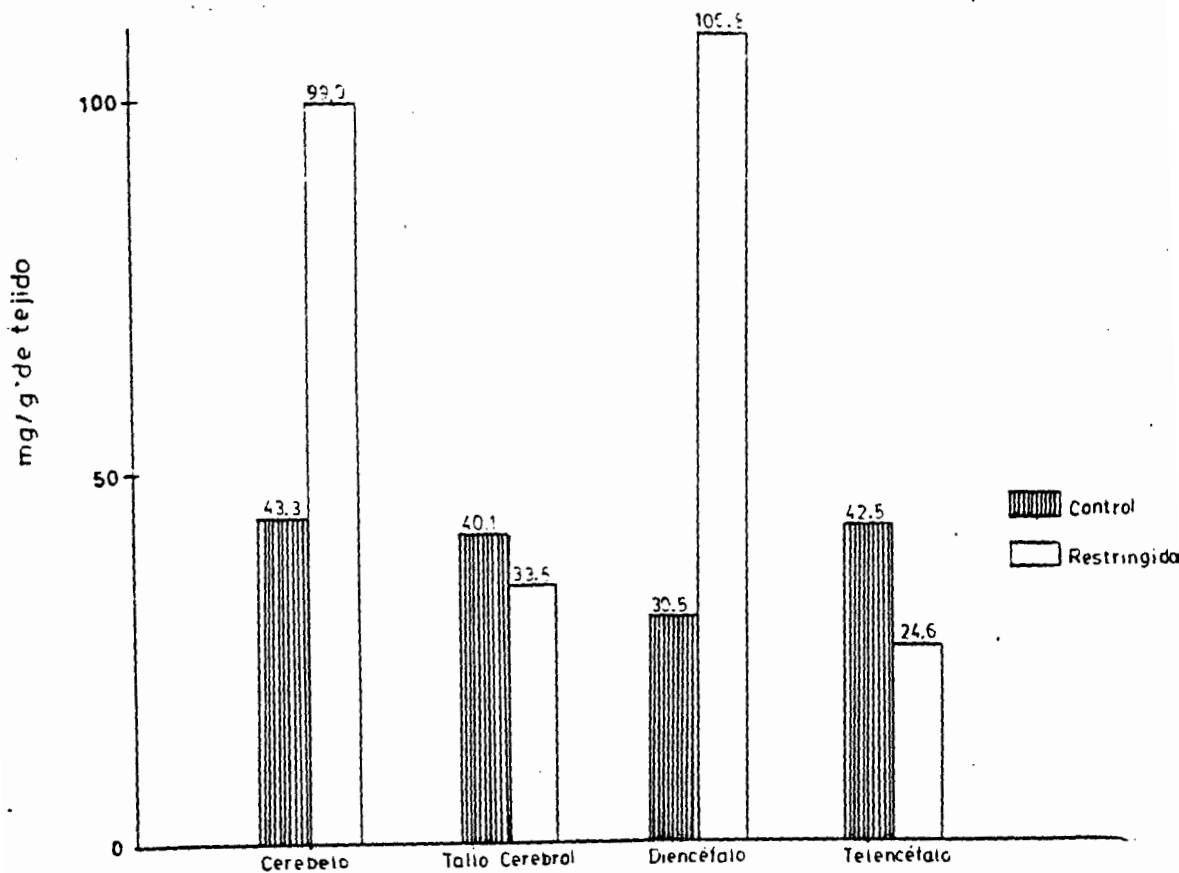


FIG.15 *Contenido de proteínas en cuatro regiones del encéfalo de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los 14 días de desarrollo.*

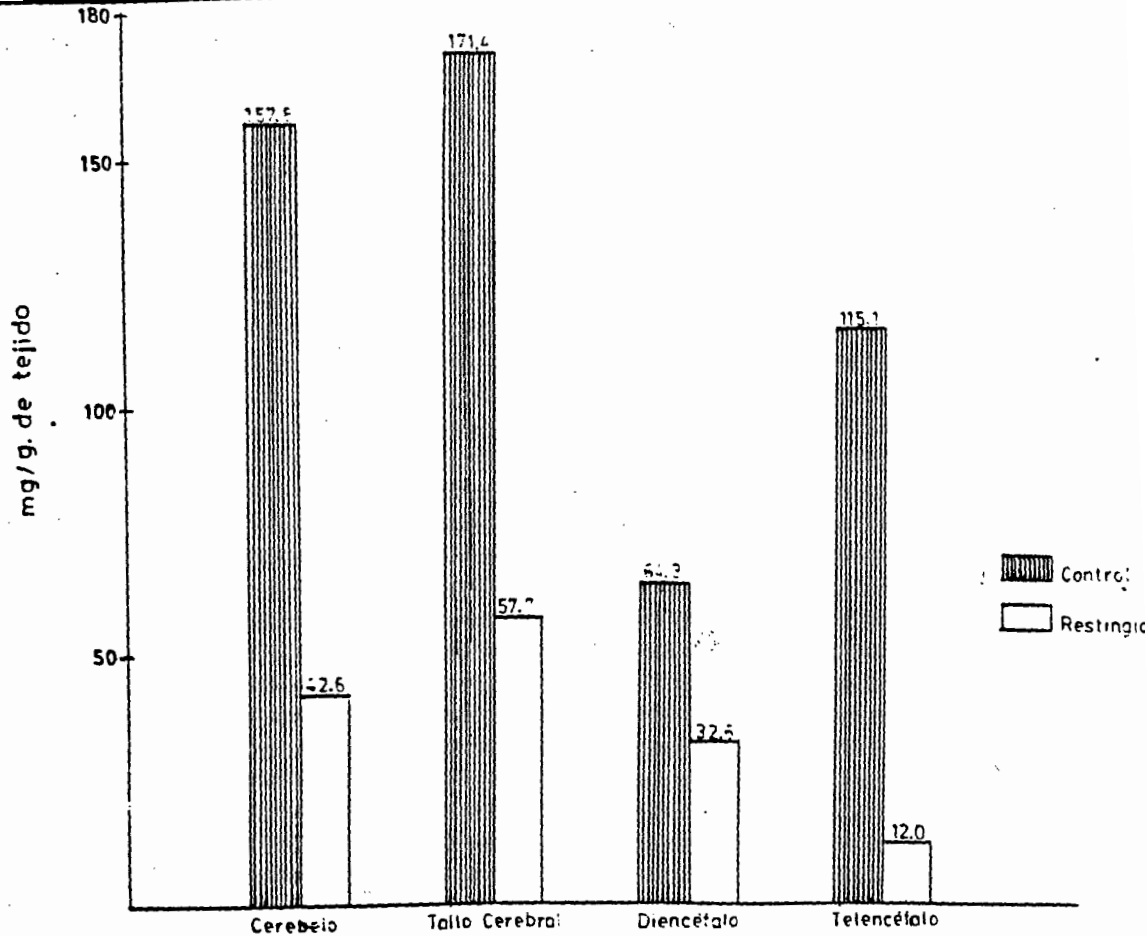


FIG.16 *Contenido de proteínas en cuatro regiones del encéfalo de lactantes con desnutrición crónica y alimentación normal a los 21 días de desarrollo.*

Guadalajara Jal., a 20 de Septiembre de 1933.

Dr. Carlos Astengo Osuna
Dir. Facultad de Ciencias
Universidad de Guadalajara
Presente.

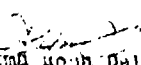
Estimado Dr. Astengo:

Por medio de la presente comunico a Ud. que la suscrita Srta. Norma Vivas de la Torre, estudiante de la Licenciatura en Biología ha concluido satisfactoriamente el proyecto de tesis titulado: EFECTO DE LA RESTRICCIÓN TECNICA SOBRE EL DESARROLLO DEL CEREBRO CENTRAL DE RATA.

Así mismo, le informo que he revisado el manuscrito de la tesis y considero que cumple con los requisitos establecidos por la Facultad y lo presentamos a consideración.

Sin mas por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E .

M. en C.  Del Angel M.
Directora de Tesis.

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

Por medio de la presente y de la manera mas atenta, le estoy solicitando me sea aceptado como tema de tesis:
"EFECTO DE RESTRICCIÓN PROTEICA SOBRE EL DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE RATAS".

Los objetivos del trabajo a desarrollar son:

- 1.- Conocer en que etapas de la lactancia son mas evidentes los efectos de la restricción protéica en el S.N.C. de la rata.
- 2.- Determinar los períodos de mayor vulnerabilidad del S.,N.C. a la restricción protéica.
- 3.- Medir el contenido de ácidos nucleicos y proteínas en el encefalo de ratas sometidas a dieta hipoproteica.

La cual se llevará a cabo en el laboratorio de nutrición de la división de Biología del Desarrollo de la Unidad de Investigaciones Biomédicas de Occidente bajo la dirección de la M en C Alma Rosa del Angel Meza y la asesoría del M en C Carlos Beas Zárate.

Esperando ser favorecida con su respuesta, agradezco de ante mano la atención que se sirva prestar a la presente, quedo de us ted.

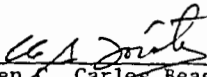
ATENTAMENTE



Edna N. Vivas De la Torre.



M. en C. Alma Rosa Del Angel M.



M. en C. Carlos Beas Z.

Recibido
oct 16 / 87




UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS

Expediente.....
Número 1318/87.....

SRITA. EDNA NORMA VIVAS DE LA TORRE
P R E S E N T E . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "EFECTO DE RESTRICCIÓN PROTEICA SOBRE EL DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE RATAS" para obtener la Licenciatura en -- Biología.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido aceptada como Directora de dicha Tesis la M.en C. Alma Rosa del Angel Meza.

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara, Jal., Octubre 29 de 1987



El Director
Dr. Carlos Astengo Osuna

FACULTAD DE CIENCIAS

El Secretario

J. Manuel Copeland
Dr. José Manuel Copeland Gurdíel.

c.c.p. La M.en C. Alma Rosa del Angel Meza, Directora de Tesis.-Pte.
c.c.p. El expediente de la alumna.

'mjsd

Al contestar este oficio cite fecha y número