

1985-B

REG. No. 082404953

Universidad de Guadalajara

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



CUANTIFICACION DE RECEPTORES A SEROTONINA
(5-HT) DURANTE LA ETAPA PERINATAL DE RATAS
ALIMENTADAS CON UNA DIETA A BASE DE MAIZ

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

CLAUDIA HURTADO GONZALEZ

GUADALAJARA, JALISCO JULIO 1993

"CUANTIFICACION DE RECEPTORES A SEROTONINA
(5-HT) DURANTE LA ETAPA PERINATAL DE RATAS
ALIMENTADAS CON UNA DIETA A BASE DE MAIZ"

Dedicatoria

A Dios, porque le debo todo lo que tengo, todo lo que soy.

A mis padres, a quienes debo la superación que he alcanzado hasta ahora y me han otorgado lo más importante de ellos, su ser.

A mis padrinos, Judith y Joaquín, quienes con cariño y paciencia han compartido conmigo el camino de mi formación profesional y espiritual.

A mis hermanos y primos, Raúl, Joel, Ma. Esdras, Miroslava, Soraya, Cuauhtémoc, Judith, Nora, Joaquín y Mireya que me han apoyado y ayudado en todo momento.

Agradecimientos

Al M. en C. Carlos Beas Zárate, por la dirección y apoyo para la realización de este trabajo.

Al M. en C. Daniel Ortuño Sahagún, por sus valiosos consejos, ayuda y revisión a la presente tesis.

A Francisco Garza Briseño, por su inapreciable ayuda y amistad.

A Fernando González Oviedo y Miguel de Santiago por brindarme ayuda y cooperación.

A mis compañeros del laboratorio de Neuroquímica, por los gratos momentos compartidos.

A Maru Cryz, Cynthia, Dolores, Margarita y a todas aquellas personas que de forma indirecta me alentaron a seguir adelante.

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Neuroquímica del Área de Investigación de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara, bajo la dirección del M. en C. Carlos Beas Zárate y la asesoría del M. en C. Daniel Ortúño Sahagún.

CONTENIDO	PAG
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	16
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
HIPOTESIS	23
OBJETIVOS	25
MATERIAL Y METODOS	27
RESULTADOS	31
DISCUSION	34
CONCLUSION	39
BIBLIOGRAFIA	41
RELACION DE TABLAS Y FIGURAS	49

INTRODUCCION

1. DESARROLLO FILOGENETICO DEL TELENCEFALO.

En el desarrollo del telencéfalo es donde se han encontrado las mayores diferencias entre los encéfalos de los distintos vertebrados. Los hemisferios cerebrales van siendo más voluminosos a medida que asciende la escala filogenética.

En todos los vertebrados, la base de cada hemisferio pronto se diferencia en un cuerpo estriado; las regiones grises de éste se denominan núcleos basales (1).

En los vertebrados inferiores los lóbulos telencefálicos son proporcionalmente menores que en los animales avanzados; en aquellos son proyecciones encaminadas hacia las cápsulas nasales, que constituyen el trayecto para las fibras nerviosas olfatorias y, por lo tanto, son estructuras destinadas a la recepción de los estímulos del sentido aludido.

Desde los ciclóstomos hasta los mamíferos, se presentan en cada lóbulo telencefálico dos partes muy bien definidas: Una anterior, conocida como bulbo olfatorio y, otra posterior que es el hemisferio cerebral (2).

PECES

1. Agnatha
 - cuerpo estriado poco desarrollado.
 - telencéfalo formado por dos bulbos olfatorios cefálicos y dos lóbulos olfatorios caudales (2), (cuya función es tan sólo recibir los impulsos del aparato olfatorio y enviarlos al diencefalo.
 - distribución de la materia gris en tres zonas longitudinalmente paralelas:
 1. Inferior: núcleos basales.
 2. Media: papelopalio.
 3. Superior: arquipalio.

2. Chondrichthyes
 - palio de paredes delgadas.
 - telencéfalo que no ha pasado de ser

un centro olfatorio.

-desarrollo de bulbos olfatorios y lóbulos ópticos dado con base en sus costumbres dependientes del sentido del olfato o visión respectivamente (1).

ej. Elasmobranquios: bulbo olfatorio que puede alcanzar dimensiones notablemente voluminosas, circunstancia por la cual a éste se llama rinencéfalo, relacionado con la agudeza olfatoria de los tiburones (2).

3. Osteichthyes

-zona dorsal de cada hemisferio membranosa o carente de tejido nervioso.

-palio bastante grueso.

ANFIBIOS

-palio más grueso que en los peces y está dividido en arquipalio y paleopaplio; ambos relacionados con el sentido del olfato.

-se empiezan a formar las vesículas cerebrales a partir del prosencéfalo pero todavía no contienen tejido nervioso (2).

REPTILES

-inicio del desarrollo de los hemisferios cerebrales, cubriendo parcialmente el encéfalo y separados por una profunda cisura media.

-aparición de una nueva región palial, el neopalio (asiento de las

más elevadas dotes intelectuales) a la cual se debe el gran tamaño de los hemisferios cerebrales de los vertebrados mamíferos.

En los cocodrilianos se forma una verdadera corteza cerebral que funciona como centro de asociación (1).

AVES

- lóbulos olfatorios rudimentarios.
- en su mayoría carecen de neopalio (por lo que no tienen corteza cerebral) (1), en otras se extiende en algo más que la mitad superior de cada hemisferio.
- paleopalio que ocupa la mitad inferior de los hemisferios.
- arquipalio (desplazado por el crecimiento dorsal del neopalio retraído hacia el interior del hemisferio y plegado) que toma una nueva modalidad: el hipocampo.
- núcleos basales de tamaño fuera de lo común, debido a la gran actividad locomotora que éstos desarrollan.

MAMIFEROS

- corteza cerebral que alcanza el máximo desarrollo.
- neopalio que ha aumentado de tamaño.
- arquipalio que continúa como centro olfatorio (hipocampo).
- paleopalio que se convierte en el lóbulo piriforme formando parte del lóbulo olfatorio.

-hemisferios que van aumentando de tamaño plegando su superficie y formando circunvoluciones y surcos. Con los marsupiales comienza la aparición de una masa blanca, el cuerpo calloso.

Los hemisferios cerebrales son tan grandes que cubren todas las demás regiones del encéfalo (1).

2. DESARROLLO EMBRIONARIO DEL TELENCEFALO.

El Sistema Nervioso Central (SNC) de los vertebrados se desarrolla a partir del esbozo primario, el tubo neural (3). Los bordes de la placa neural (situada en la región dorsal media) se elevan y forman el surco neural que al fusionarse forma el "tubo neural", presentando una porción caudal larga, futura médula espinal; y una porción cefálica más ancha, futuro encéfalo.

Poco después, en el extremo cefálico del tubo neural aparecen tres dilataciones netas: Prosencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo (2). Posteriormente se pasa a otra etapa en donde se distinguen cinco regiones o vesículas: 1) Telencéfalo o porción anterior, constituida por los hemisferios cerebrales cuya cavidad son los ventrículos laterales; 2) Diencéfalo o porción posterior, cuya cavidad forma el tercer ventrículo; ambas regiones son procedentes del prosencéfalo; 3) Mesencéfalo, poco o nada modificado; 4) Metencéfalo, formado por el cerebelo y cuya cavidad es el cuarto ventrículo y; 5) Mielencéfalo; ambos, parte anterior y posterior respectivamente, procedentes del rombencéfalo (Fig. 1) (4).

El telencéfalo, la vesícula cerebral más rostral, consiste en una porción mediana y dos divertículos laterales: las vesículas o los hemisferios cerebrales (5); de aquí que al telencéfalo también se le denomine cerebro hemisférico. Es la parte más voluminosa del encéfalo. Cubre hacia atrás al cerebelo del que está separado por la tienda del cerebelo. En su conjunto

tiene la forma de un ovoide de extremidad posterior gruesa (6).

El hemisferio cerebral está formado por tres partes: El pallium o corteza, el rinencéfalo y los núcleos de la base. Cada hemisferio tiene tres polos: Frontal, occipital y temporal; cuatro lóbulos: Frontal, occipital temporal y parietal, más el lóbulo central o ínsula y, tres superficies: Dorsolateral, medial y basal (7).

Desarrollo de la corteza cerebral.

Se desarrolla a partir del pallium y se divide en dos regiones: 1) Paleopallium, que aparece en la séptima semana de vida intrauterina y proviene de la conglomeración de células que migran de la capa estriada del manto hacia la zona marginal y actúa como estación de relevo para impulsos olfatorios y, 2) Neopallium, de aspecto estratificado a causa de oleadas sucesivas de células provenientes de la capa del manto.

Los hemisferios cerebrales comienzan a desarrollarse como evaginaciones laterales de la pared lateral del prosencéfalo. La proliferación celular ocurre principalmente en la capa neuroepitelial y se producen abundantes neuroblastos para la capa del manto. Luego comienza a aumentar de volumen y en consecuencia sobresale en el interior del ventrículo lateral; esta región de crecimiento rápido y de aspecto estriado forma el cuerpo estriado (8), presente en la zona de unión de cada hemisferio con el cerebro intermedio (6). El resto de la pared del hemisferio sigue delgada y forma el pallium, primordio de la corteza cerebral.

En donde la pared del hemisferio está unida al techo del diencéfalo se forma el plexo coroideo resultando del crecimiento desproporcionado de varias partes del mismo. Sobresale en el ventrículo lateral siguiendo una línea llamada cisura coroidea. Por arriba de esta cisura, la pared del pallium está engrosada, lo cual forma el hipocampo, de función olfatoria como se mencionó anteriormente.

Al crecer los hemisferios cubren la porción lateral

del diencéfalo, mesencéfalo y porción cefálica del metencéfalo. Posteriormente la pared media del hemisferio y la pared del diencéfalo experimentan fusión.

El crecimiento interrumpido de los hemisferios cerebrales en direcciones anterior, posterior e inferior origina la formación de los lóbulos frontal, temporal y occipital (8). Al crecer el hemisferio, la corteza situada sobre la superficie externa del cuerpo estriado crece con lentitud comparativa y pronto se ve excedida (5).

En la parte final de la vida fetal, la superficie de los hemisferios cerebrales crece con gran rapidez que presenta muchas circunvoluciones separadas por cisuras y surcos.

En el adulto, los hemisferios cerebrales están conectados por varios haces de fibras, las comisuras, que se desarrollan en la lámina terminal (9). La primera que aparece es la comisura anterior, que consiste en fibras que conectan el bulbo olfatorio y el área cerebral de las dos mitades del cerebro; la segunda, es la comisura del hipocampo o del triángulo (1).

La comisura más importante es el cuerpo calloso, que comunica las áreas no olfatorias de la corteza cerebral derecha con la izquierda y áreas neocorticales.

Además de éstas, se forma la comisura posterior, interhabenular y el quiasma óptico, el cual consiste en fibras de las mitades internas de la retina, que se cruzan para unirse a la cintilla óptica del lado opuesto (6).

3. IMPORTANCIA, IMPLICACIONES Y FUNCIONES DEL TELENCEFALO.

a) Importancia:

Aquí están localizados los centros nerviosos que controlan las actividades que caracterizan la vida psíquica altamente desarrollada del ser humano, tales como la inteligencia y el pensamiento.

La sede de percepción consciente se encuentra en los hemisferios cerebrales, derivados del telencéfalo (1).

b) Funciones:

En la mayoría de los sujetos, todas las funciones que se relacionan con la comprensión y producción del lenguaje, incluyendo la lectura y la escritura, están controladas, predominantemente, por el hemisferio izquierdo. En una muy pequeña minoría de diestros y en un porcentaje mayor de zurdos, pero aún una minoría, la dominancia del lenguaje reside en el hemisferio derecho o en ambos.

Las funciones relacionadas con la orientación espacial, el talento artístico y musical están predominantemente controladas por el hemisferio derecho.

c) Implicaciones:

La lesión de los lóbulos frontales incapacitan la planificación para el futuro y la organización de las actividades en los individuos.

La lesión unilateral produce afasia o un defecto leve de audición.

La lesión de la formación del hipocampo conduce a un deterioro en la memoria.

Las lesiones en el lóbulo temporal causan ataques de epilepsia.

En los monos, la resección experimental de la corteza de asociación parietal produce retracción del animal y evita el contacto con objetos y otros animales (10).

4. DISTRIBUCION DEL SISTEMA SEROTONINERGICO EN EL CEREBRO.

El complejo del rafé juega un papel importante dentro del sistema nervioso ya que se caracteriza por contener la gran mayoría de células serotoninérgicas (5-HTérgicas) en el SNC (fig. 2) (11-13).

Algunos estudios han demostrado que los axones serotoninérgicos originados en el complejo del rafé, forman contingentes de fibras ascendentes y descendentes (14). Las fibras ascendentes originadas en los núcleos del rafé dorsal se entremezclan en el área tegmental ventral donde forman un

componente medial del haz fronto-cerebral, del cual llegan fibras al área hipotalámica lateral y ahí forman parte del haz medial fronto-cerebral; algunas de las fibras que aún continúan en dicho haz se dirigen al núcleo acumbens, dorsales al tubérculo olfatorio y terminan alcanzando su mayor descendencia en los bulbos olfatorios. Otro grupo de fibras gira lateralmente a través del diencefalo para llegar al alza peduncular, haz amigdaloides ventral, formación hipocámpal, corteza lateral y posterior, tálamo ventral y cuerpo estriado. A nivel de núcleo olfatorio se originan fibras que pasan a través del septum y alcanzan el fornix, alcanzando luego la formación hipocámpal. Otras fibras que atraviesan el septum rodean al cuerpo calloso y forman un denso grupo que es el componente medial del cíngulo el cual da inervación a la corteza dorsal, rudimento y formación hipocámpal. Otras proyecciones ascendentes adicionales son originadas en el área mesencefálica y se dirigen hacia la región talámica, hipotalámica periventricular hasta el haz medial fronto-cerebral; otras ascienden dorsal y caudalmente a través del brazo conjuntivo dentro del cerebelo.

Las vías 5-HTérgicas descendientes se originan en los núcleos del rafé de la porción inferior: Núcleos del rafé magnus, oscuro y pálido, que se proyectan hacia la médula espinal (15).

4.1 Bioquímica y Neurotransmisión 5-HT-érgica.

El método de histoquímica de fluorescencia para la identificación de Serotonina (5-HT), desarrollado por un destacado grupo en Suecia (16) permitió obtener una distribución de los somas neurales, axones y terminales nerviosas de las células que específicamente utilizan 5-HT como neurotransmisores en el SNC (17).

La neurotransmisión mediada por la 5-HT (Fig.3) que incluye un mecanismo de liberación, interacción del transmisor con su receptor y, captación de este con el espacio sináptico, son fenómenos bastante estudiados (18).

La formación de 5-HT en células nerviosas cerebrales se lleva a cabo a partir del aminoácido precursor triptófano, el cual se extrae del plasma por medio de un mecanismo de transporte activo que se localiza en las células endoteliales de los vasos sanguíneos. Este es un mecanismo importante que permite regular la concentración de 5-HT en las células del SNC, ya que se ha demostrado que con una disminución de triptófano en la dieta desciende rápidamente la concentración de 5-HT en el cerebro (19).

a) Síntesis y degradación de 5-HT.

El precursor primario de la 5-HT, como se dijo anteriormente, es el L-triptófano proveniente de la dieta. El L-triptófano es hidroxilado en la fracción citosólica celular por la enzima tipo triptófano-5-hidroxilasa (Fig. 4). Esta oxidasa de función mixta es dependiente de oxígeno molecular (O_2) y de tetrahidrobiopterina (20), y está presente sólo en las células que sintetizan 5-HT. La K_m de la enzima para el triptófano es de 50 a 120 μM . La concentración de triptófano en el cerebro es aproximadamente 30 μM . La hidroxilación del triptófano es el paso limitante en la formación de 5-HT. La estimulación de síntesis es dependiente en Ca^{++} y se acompaña por un incremento en la V_{max} de la enzima (21).

El producto de la reacción de la triptófano-5-hidroxilasa es el 5-hidroxitriptófano que se descarboxila por la 5-hidroxitriptófano descarboxilasa y forma la Serotonina (20).

Finalmente, la degradación metabólica de la 5-HT metabólicamente es a través de la acción de la Monoamino oxidasa (MAO) (Existente en dos tipos: A y B, siendo esta última la que oxida preferencialmente a la 5-HT) (22) que oxida al grupo amino de la 5-HT para formar el aldehído 5-hidroxi-indolacético; este a su vez, es rápidamente oxidado a su metabolito final denominado ácido 5-hidroxi-indolacético o puede reducirse a alcohol 5-hidroxitriptofol (20).

b) Almacenamiento.

La 5-HT se forma y almacena en sinaptosomas (21). El mecanismo de transporte por el cuál se almacena es activo dependiente de energía y Mg^{++} (23) y que se inhibe por Na^+ y K^+ (24).

c) Liberación.

La 5-HT es liberada por la estimulación de las células del núcleo del raquídeo. Estas células contienen autorreceptores de 5-HT que reciben la llegada de axones colaterales que contienen 5-HT. Hay péptidos que pueden funcionar para modular la liberación de ésta (21). La entrada de Ca^{++} en la terminal nerviosa permite la movilización de las vesículas que contienen moléculas del neurotransmisor, que se fusionan con la membrana presináptica y son liberadas por un proceso de exocitosis (25). Después de ser liberadas, viajan a través del espacio sináptico para interactuar con su receptor específico localizado en la membrana postsináptica; mientras que se han descrito otros tipos de receptores localizados en el elemento presináptico denominados autorreceptores.

d) Interacción con el receptor.

La acción que generalmente posee la 5-HT como producto de la interacción con su receptor específico en el elemento postsináptico es de tipo inhibitorio. Sin embargo, en ciertas regiones del SNC algunas células responden de una manera excitatoria (26), lo que permite pensar en la existencia de diversos tipos de receptores que reaccionan a la 5-HT que se analiza más adelante.

e) Remoción del transmisor.

Parece ser a través de un mecanismo transportador específico localizado en la terminal nerviosa presináptica tipo serotoninérgica, este mecanismo conduce 5-HT desde el espacio sináptico hacia la neurona que lo liberó. Una vez dentro de la neurona, la 5-HT no es capaz de actuar en los receptores de la membrana sináptica (27,28). El sistema de transporte requiere de energía metabólica y depende de temperatura, es un sistema saturable, con una cinética bien definida y un requerimiento

considerable de iones Na' en el espacio extracelular. Por eso, el proceso se inhibe en presencia de compuestos capaces de inactivar la ATPasa, el Na' y el K' dependiente, tales como la ouabaina y la N-etilmaleimida (29).

5. RECEPTORES.

El concepto de receptores para hormonas y neurotransmisores está basado ampliamente en estudios farmacológicos.

Las técnicas de radioligando en membranas del cerebro han sido utilizadas para caracterizar neurotransmisores múltiples y drogas con sitios receptores en homogenizados de cerebros (30).

Como anteriormente se mencionó, la 5-HT tiene acción tanto inhibitoria como excitatoria en el SNC y SNP. Estudios farmacológicos y fisiológicos han demostrado que las múltiples acciones de la 5-HT son mediadas por varios subtipos de receptores en diferentes células, designados como 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C}, 5-HT_{1D}, 5-HT₂, 5-HT₃, y 5-HT₄. De estos, los 5-HT₁ son los más abundantes en el SNC (31), principalmente en la corteza cerebral y el cuerpo estriado que contienen una alta densidad de receptores 5-HT, con relación al cerebelo, que está desprovisto de éstos (32). Así, por ejemplo: la acción alucinógena del LSD y otros análogos psicotrópicos de la 5-HT es debida a la acción cortical de los receptores a 5-HT₁ o 5-HT₂. En contraste, el dolor se produce por la aplicación iontoforética de 5-HT, es resultado de la activación de receptores 5-HT, sobre las terminales nerviosas sensoriales primarias (31).

La activación de los receptores 5-HT, causa excitación neuronal, y los agonistas del receptor son a menudo alucinógenos. La espiperona es un antagonista altamente selectivo para los sitios de unión de los receptores del tipo 5-HT₁(33).

En general, los sitios 5-HT, predominan en todas las regiones del cerebro encontrándose la más alta densidad en el hipocampo y, la única excepción de su presencia es en la corteza cerebral. Los sitios 5-HT₁, se encontró que predominaban en el hipocampo, y septum; los 5-HT₂, fueron encontrados en el núcleo

caudado, colículo superior, cuerpo genicular lateral, subiculum y sustancia nigra, los sitios 5-HT₁, se encontraron en el plexo coroideo (31).

El primer análisis que se reportó con el uso de radioligando a receptores a 5-HT fue la unión del D-ácido lisérgico diethylamida [³H] (LSD), la cual fue saturable, reversible y manifestó alta afinidad para estos sitios de reconocimiento en membranas neuronales. El segundo radioligando que se utilizó para marcar receptores de 5-HT fue 5-HT-[³H], el cual fue saturable, de alta afinidad, estereoespecífica y manifestó variaciones en regionales del SNC.

Un avance considerable en este tipo de análisis se debió al hallazgo de que la espiperona-[³H] se une a sitios de reconocimiento de 5-HT₁. El orden de magnitud de potencia en desplazamiento de la [³H]-spiperona es de 2,700 nM (30).

6. IMPORTANCIA, IMPLICACIONES Y FUNCIONES DEL SISTEMA SEROTONINERGICO EN RELACION AL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

Después del descubrimiento de la 5-HT en la sangre (plaquetas) en el año de 1948, mastocitos y células enterocromafines, se demostró su presencia en el SNC a principios de la década de los cincuentas (34). Un número subsecuente de estudios sugirieron que la 5-HT se producía por sistemas neuronales específicos, ya que la 5-HT no atraviesa la barrera hematoencefálica, y no fue hasta el estudio de Heller y colaboradores que pudo asegurarse de esto hecho (35).

a) Importancia.

Las neuronas 5-HTérgicas son especialmente importantes durante algunos períodos de la vida, como por ejemplo, en el periodo posnatal para la adquisición normal de comportamientos específicos y de respuestas a estímulos del medio ambiente, tales como la integridad de muchos tipos de conducta como son el sueño, la sensibilidad al dolor, la actividad locomotora, el sexo; las cuales dependen en parte del funcionamiento normal de las neuronas 5-HTérgicas en el cerebro (36). Dichas neuronas pueden

transmitir al resto del encéfalo importante información durante los procesos de crecimiento y desarrollo del estrés.

En ratas machos y hembras la reducción del nivel de 5-HT da lugar a una actividad sexual muy exagerada, y un aumento en el nivel de 5-HT en estos animales, disminuye la sensibilidad al dolor; mientras que simples cambios en la concentración de 5-HT puede influir tanto en la actividad motora como en el consumo de alimentos (37). Así, la 5-HT, al igual que la noradrenalina, son factores determinantes en la susceptibilidad a las crisis convulsivas (38).

El sistema 5-HTérgico juega un papel importante en la regulación del ciclo sueño-vigilia. Algunas pruebas que apoyan esta hipótesis se ha demostrado por medio de lesiones del sistema del rafé, así como por la administración de drogas que bloquean la síntesis de 5-HT (p-clorofenilalanina) en el paso triptófano hidroxilasa, en donde se producen estados de vigilia prolongada (insomnio) (39). Estas lesiones que destruyen también neuronas que secretan 5-HT hacia el exterior del sistema activador reticular. Por tanto se sugiere que el sueño se induce por la secreción de 5-HT; por lo que la falta de sueño altera las funciones del SNC (40).

El transmisor sináptico de las fibras del rafé medular es la 5-HT. Si se interrumpe la continuidad de la médula por algún desgarré o daño, se pierde sensibilidad, ya que las fibras del tracto corticoespinal se origina en el área poscentral de la corteza que es sensitiva.

Algunos autores señalan a la 5-HT como la sustancia química cerebral específica de gratificación (Autcestimulación positiva). El área hipotalámica, uno de los sitios de gratificación, está implicada en la génesis de la sensación de saciedad posterior a la ingestión. Así, la importancia que se presume que desempeña el sistema 5-HTérgico en la evocación de las sensaciones de satisfacción y del apetito, se ha permitido una amplia difusión para utilizar al triptófano como suplemento dietético (41).

b) Implicaciones.

En varias patologías psiquiátricas tales como la psicosis afectiva y la esquizofrenia, se han implicado trastornos de las neuronas monoaminérgicas en donde se incluyen las 5-HTérgicas.

La falta de melanina, que da el color oscuro normal de la sustancia nigra, está asociada con una deficiencia de 5-HT y de dopamina; esto implica en parte a la 5-HT con la enfermedad de Parkinson, cuya sustancia nigra es más clara) (10). También la 5-HT se ha relacionado con algunos procesos del aprendizaje y la memoria en animales (42), así como en pacientes con algunas enfermedades mentales.

c) Funciones.

La 5-HT, al igual que otros agentes humorales tiene diferentes funciones en el cuerpo y tan sólo el número de funciones sugeridas para su acción en el cerebro es grande. Las principales funciones en el SNC son dos: 1) Que actúa como un neurotransmisor en las neuronas 5-HTérgicas y 2) Que funciona en el control del humor.

La alta concentración de 5-HT en la glándula pineal y en el hipotálamo sugieren una asociación con funciones rítmicas, como por ejemplo la velocidad del movimiento ciliar en el músculo de la agalla de un pez (Mytilus edulis). También existen evidencias de que la 5-HT y las catecolaminas (CA) tienen una relación recíproca en el control de la temperatura, mientras que la 5-HT administrada por vía intraventricular eleva la temperatura rectal en gatos anestesiados, las CA la disminuyen (43).

Un conjunto de pruebas sugieren que las vías monoaminérgicas incluyendo la serotoninérgica, posee un papel importante en la elaboración y control de las reacciones de cólera asociadas con el hipotálamo y el sistema límbico (10).

ANTECEDENTES

La desnutrición se contempla como una problemática mundial en amplios sectores de la población (44), lo que hace urgente la realización de estudios cada vez más profundos, aunados a los ya existentes, de las causas que la producen así como sus consecuentes efectos (45).

La rata presenta una ventaja para su uso como modelo de investigación para estos estudios, ya que las primeras etapas de su vida postnatal tiene un requerimiento de aminoácidos similar al del humano (46).

En el cerebro de la rata, la división celular termina aproximadamente a los 21 días postnatales (47), de aquí que los efectos de la desnutrición en el desarrollo cerebral, son tanto más severos cuánto más joven es el individuo (48).

La desnutrición protéica en ratas instituida posteriormente a su concepción y durante su desarrollo, se ha utilizado para producir cambios substanciales en el crecimiento del cuerpo, así como en la neuroquímica del cerebro, la neuroanatomía, el contenido cerebral de ADN y ARN en el desarrollo cerebelar, conducta y metabolismo de aminos biogénicas (49).

Mientras que hay mecanismos homeostáticos para proteger el cerebro contra las fluctuaciones en la disponibilidad de nutrientes esenciales, la privación de alimento se conoce que modifica la neuroquímica del cerebro. Dado el problema de crecimiento de infantes desnutridos y el hecho de que el desarrollo del sistema nervioso parece ser especialmente vulnerable a este tipo de ultraje, numerosos estudios se han conducido para definir las relaciones entre los factores nutricional y el crecimiento celular y la maduración del cerebro. La información sugiere que el desarrollo de ambos elementos neural y no neural son significativamente afectados por la desnutrición.

Esto incluye procesos y sustancias importantes para la neurotransmisión como la síntesis, degradación y transporte de neurotransmisores así como sitios de receptores. Por lo que

algunas de las disfunciones en la neuroquímica sináptica induce a algunas de las anomalías del SNC las cuales resultan de la desnutrición infantil como posible consecuencia en la modificación de la fisiología sináptica (50).

Numerosas investigaciones en ratas, han estudiado el efecto de la desnutrición sobre el SNC. La desnutrición causa retardo en el crecimiento del cerebro, ya que este órgano, al igual que todos los tejidos requieren de aminoácidos, vitaminas, minerales, sustratos de energía y ácidos grasos para construir y mantener sus 10^{10} neuronas y sus 10^{11} células de neuroglia-astrocitos, oligodendrocitos, células de microglia y células ependimarias. De esta manera, la desnutrición produce retardo en el establecimiento de contactos sinápticos, encontrándose de tal modo alteraciones en la memoria, aprendizaje y en el comportamiento entre otros aspectos adicionales (51).

La forma más prevalente de malnutrición en humanos está caracterizada por su naturaleza crónica y generacional. Estudios preliminares en ratas indican que una moderada restricción de proteínas (dieta 8% caseína) en la primera generación se vuelve una restricción más severa de proteínas en la segunda generación. Esto es en base a ganancias de peso de las madres durante el embarazo, el bajo o pobre número de cachorros por camada (F1), el bajo peso del cuerpo del cachorro y el peso del cerebro al nacimiento, las curvas de crecimiento, los niveles de triptófano, serotonina y ácido 5-Hidroxyindolacético (5-HIAA) en el cerebro del nacimiento al destete (52).

Por varias investigaciones se concluye que el peso del cuerpo y órganos, así como varios parámetros del crecimiento celular (ADN, ARN, proteínas, aminoácidos y nucleótidos totales) se encuentran reducidos en los animales restringidos de dieta (53).

Un suministro bajo de proteínas durante el embarazo es responsable de pequeñas modificaciones en el peso de los fetos hacia el final de la gestación (54). Existe una correlación en cuanto al peso cerebral y peso corporal, y puede ser perturbado

por desnutrición (48).

Algunos estudios han demostrado que los pesos de los cerebros así como los contenidos de ácidos nucleicos y proteínas fueron dañados por una dieta baja en proteínas y estas alteraciones se acentuaron por la dieta a base de maíz (55).

Los efectos de la desnutrición sobre varios órganos depende de la duración y severidad de la deficiencia dietética. La malnutrición puede afectar ciertas regiones del cerebro más que otras, dependiendo de la susceptibilidad al momento en que ésta se aplique. Por ejemplo, en el nacimiento, el cerebro de la rata contiene 50% de su composición final de células gliales y casi todas sus neuronas, y alcanza su población total alrededor de los 21 días. a esta edad el cerebro contiene el 50% del contenido de ADN del cerebro total, mientras que en el tallo cerebral alcanza su población máxima poco antes (56).

En los últimos años se han reportado trabajos sobre la relación que existe entre la nutrición y el desarrollo de los sistemas de neurotransmisión, destacándose entre ellos los estudios que tratan sobre el desarrollo normal de las células serotoninérgicas (5-HTérgicas) en el SNC, ya que la 5-HT es de vital importancia por la implicación de ésta en diversos aspectos de la neurotransmisión, regulación de expresión de factores de crecimiento, ciclos del sueño, factores hormonales, sensibilidad al dolor, aprendizaje y memoria (57-59).

La 5-HT es una amina biogénica que funciona como neurotransmisor y como hormona en el SNC y Sistema Nervioso Periférico (SNP) de los mamíferos. Dentro del cerebro, las neuronas 5-HTérgicas se originan principalmente en el núcleo de rafé del tallo cerebral y se proyectan a otras áreas del SNC, donde regulan una amplia variedad de funciones sensoriales y motoras (50).

Es indudable que el metabolismo central de la serotonina puede ser influenciado por factores dietéticos, ya que el triptófano es el único aminoácido precursor de la síntesis cerebral de la serotonina y es importante señalar que dicho

aminoácido participa en diversos procesos metabólicos.

El triptófano cerebral, y consecuentemente el metabolismo de la serotonina, están regulados por la relación de triptófano plasmático y algunos aminoácidos neutros que compiten por el mismo sistema de transporte (tirosina, fenilalanina, leucina, isoleucina y valina). La ingestión de una dieta estándar de laboratorio por parte de animales no da lugar a ningún cambio en el triptófano cerebral o metabolismo de serotonina, debido a que la dieta contiene todos los aminoácidos neutros. La ingestión de una dieta carente de los aminoácidos neutros competidores pero que contiene triptófano, da lugar a niveles elevados de triptófano cerebral, mientras que una dieta sin triptófano, pero que además contiene los aminoácidos neutros competidores, provoca una reducción en el triptófano cerebral y en el metabolismo de la serotonina. También se ha demostrado que la ingestión de carbohidratos causa un incremento en la serotonina cerebral (60). Así, con el modelo de desnutrición utilizando al maíz como única fuente de proteína (61,62) y cuya proteína es deficiente en los aminoácidos lisina y triptófano (63), se ha demostrado en forma indirecta, además de la disminución en la síntesis y degradación de serotonina, una reducción en los niveles de serotonina paralelo a una deficiencia en el aporte de triptófano (64,65), así como una reducción en la capacidad de las células serotoninérgicas para responder en forma adecuada a un suplemento normal de triptófano por vía intraperitoneal (62).

Al someter a desnutrición a ratas antes de la concepción y continuarla durante la gestación se producen alteraciones en el metabolismo de algunos neurotransmisores (66-68). En particular, en el modelo de desnutrición a base de una dieta de maíz anteriormente mencionado tanto el metabolismo como la neurotransmisión mediada por las aminas biogénicas se observan severamente afectados, especialmente el sistema 5-HTérgico (68-70).

**PLANTEAMIENTO
DEL
PROBLEMA**

Por su deficiencia en el contenido de proteínas y de los aminoácidos triptófano y lisina, la dieta a base de maíz puede considerarse como un buen modelo experimental para entender los mecanismos de producción de alteraciones bioquímicas, morfológicas y funcionales durante el desarrollo, principalmente en el Sistema 5-HTérgico (71).

Estudios recientes en nuestro laboratorio y con el uso de este modelo han mostrado una importante reducción en los niveles de 5-HT así como en la cinética de captación (V_{max}) en diferentes regiones del SNC de la rata durante su desarrollo posnatal, lo que puede ser un indicador importante de que la neurotransmisión 5-HTérgica se afecta por la desnutrición; esto permite la posibilidad de que el SNC desarrolle otros mecanismos compensatorios y de plasticidad neuronal, particularmente sobre el sistema indolaminérgico, los cuales pueden reflejarse neuroquímicamente con parámetros que indican neurotransmisión, tales como niveles del transmisor, así como almacenamiento, captación y liberación del mismo a nivel sináptico, número de receptores pre y postsinápticos.

Con base a lo antes expuesto, resulta importante conocer si la desnutrición también induce cambios en la cantidad de receptores a 5-HT en el SNC, lo cual pudiera ser parte de los mecanismos compensatorios o de plasticidad del sistema indolaminérgico; por lo que el objetivo del presente trabajo es determinar la cantidad de receptores a Serotonina del tipo 5-HT₁, mediante la unión del antagonista espiperona marcado con tritio.

HIPOTESIS

El triptófano es un aminoácido precursor de la Serotonina (5-HT) y la transmisión Serotoninérgica en el SNC depende del transmisor liberado y de la presencia de los receptores postsinápticos para éste, luego entonces, una deficiencia en el suplemento del triptófano en la dieta modificará la expresión de los receptores para Serotonina del tipo 5-HT.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Determinar el efecto de la alimentación con una dieta a base de maíz sobre la cantidad de receptores 5-HT, en el encéfalo de productos de rata a los 18 y 20 días de gestación y al nacimiento.

OBJETIVOS PARTICULARES:

I.-Cuantificar la unión de espiperona tritiada en encéfalo de productos de rata alimentada con una dieta a base de maíz, a los 18 y 20 días de gestación y al nacimiento.

II.-Determinar la unión de espiperona tritiada en el encéfalo de productos de rata alimentada con una dieta a base de maíz-lisina en las mismas edades anteriores.

III.-Determinar la unión de espiperona tritiada en el encéfalo de productos de rata alimentada con una dieta a base de chow-purina (grupo testigo) en las mismas etapas de desarrollo.

MATERIAL
Y
METODOS

PREPARACION DE LOS ANIMALES.

Se utilizaron 80 ratas (Wistar) hembras adultas (250-300g.), colocándose grupos de 4 en jaulas y se mantuvieron bajo ciclos regulares de luz-obscuridad 12 X 12 horas, humedad relativa del ambiente entre 45-50%, temp. 22 ± 2 °C, agua y comida en abundancia.

Las ratas adultas fueron divididas en tres grupos y alimentadas con diferentes dietas durante seis semanas de la siguiente manera:

A: dieta de proteína Chow-Purina como testigo.

B: dieta de Maíz como fuente única de proteína.

C: dieta de Maíz complementada con Lisina como fuente de proteína.

Las dietas fueron isocalóricas y complementadas con vitaminas, minerales y grasas.

Al final de 6 semanas se cruzaron con el macho y las crías fueron pesadas y sacrificadas por decapitación, a los 18 y 20 días de gestación y al nacimiento (22 a 24 días). La determinación de las edades se realizó por la presencia de espermatozoides en la vagina de las hembras y se tomó como el día 1' de gestación, a través de una Citología exfoliativa mediante la técnica de Papanicolao (72) tomando muestras diarias al día siguiente de la crua.

Los encéfalos de los productos que extrajeron en frío y se pesaron. Posteriormente se hizo una extracción de membranas para la cuantificación de receptores a sitios 5-HT,.

EXTRACCION DE MEMBRANAS PARA CUANTIFICACION DE RECEPTORES A 5-HT,

Los tejidos se homogenizaron con un homogenizador mecánico (Polytron); el tejido se suspendió en 20-40 volúmenes de amortiguador Tris-HCl 50 mM, pH=7.7 a 25 °C. El material se centrifugó a 17,000 rpm a 4 °C durante 10 min. El sedimento se lavó una vez y se rehomogenizó en el mismo amortiguador y fué recentrifugado. Posteriormente se resuspendió en el amortiguador adecuado para la incubación, Tris-HCl 50 mM con 0.1% de ácido ascórbico y pægilina 10 uM, pH = 7.2 y a 25 °C.

Finalmente se hicieron diluciones del tejido para que la concentración de proteínas fuera de aproximadamente de 0.5 mg/ml, considerando el 2% de proteína sobre el peso total del tejido (73).

Una vez hechas las diluciones se tomaron las siguientes cantidades para cada muestra:

200 μ l de cada muestra de tejido:

20 μ l de Tris de incubación con pargilina y ácido ascórbico.

20 μ l de 5-HT en Tris de incubación con pargilina y ácido ascórbico.

Se adicionaron 20 μ l de Espiperona- 3 H 0.9 nM, y se incubaron las muestras a 37 °C durante 10 min. Posteriormente, las muestras se filtraron en membranas de fibra de vidrio y se lavaron con amortiguador Tris HCl 50 mM, pH 7.2. Los filtros se colocaron en viales de cristal conteniendo líquido de centelleo para finalmente cuantificar la radiactividad en un contador de centelleo líquido Beckman LS-6000. Los cálculos se expresan en pMoles/g de tejido húmedo/hora. La determinación de proteínas se realizó por el método de Lowry y col. (1951) utilizando albúmina de suero de bovino como patrón y todos los ensayos se realizaron por duplicado. La n fue de 4-6 experimentos y con determinaciones por duplicado.

Los resultados se evaluaron bajo un diseño experimental completamente al azar y con desigual número de repeticiones, tomando en consideración la prueba paramétrica t-student.

RESULTADOS

PESO CORPORAL DE LAS CRIAS

Los resultados obtenidos en el presente trabajo respecto al peso corporal de las crias en las edades estudiadas, muestran una importante reducción (30 al 40%) estadísticamente significativa a los 18 y 20 días de gestación así como al nacimiento de los grupos experimentales alimentados con Maíz (M) y Maíz-Lisina (M-L) con respecto al grupo testigo alimentado con Chow purina (Fig. 5).

PESO DEL ENCEFALO.

En cuanto al peso encefálico de los productos estudiados con las diferentes dietas en los resultados no se observó diferencia significativa en ninguno de los grupos experimentales Maíz y Maíz-Lisina con respecto al grupo testigo (Fig. 6). Sin embargo se observa una tendencia a disminuir.

CUANTIFICACION DE RECEPTORES A SEROTONINA.

Para los estudios de unión de la espiperona- $[^3H]$ se utilizaron concentraciones superiores a la constante de disociación para determinar la unión total. De ésta manera, los resultados obtenidos muestran una marcada y evidente tendencia a la disminución en el número de receptores a serotonina a los 18 y 20 días de gestación en los productos de los grupos alimentados con Maíz y Maíz-Lisina respecto al testigo (Fig. 7). Así, los valores encontrados a los 18 días de gestación corresponden a 0.78 ± 0.71 pM/g de tejido húmedo para el grupo testigo, así como 0.22 ± 0.11 pM/g de tejido húmedo y 0.30 ± 0.26 pM/g de tejido húmedo respectivamente para los grupos experimentales de Maíz y Maíz-Lisina. Esto representa una disminución en el número de receptores a serotonina del 70% del grupo Maíz y el 60% del grupo Maíz-Lisina con relación al grupo testigo.

A los 20 días de gestación los valores que se observaron fueron de 0.47 ± 0.26 pM/g de tejido húmedo y 0.34 ± 0.23 pM/g de tejido húmedo respectivamente para el grupo de Maíz y Maíz-Lisina, disminución del 65% y 75% respectivamente con

relación al grupo testigo cuyos valores fueron de $1.38 \pm .05$ pM/g de tejido húmedo.

Al nacimiento ésta disminución se encontró estadísticamente significativa ($p < 0.01$) en el número de receptores a serotonina de los grupos experimentales Maíz y Maíz-Lisina con respecto al testigo (Fig. 7), con los valores correspondientes para el grupo de Maíz de 0.41 ± 0.23 pM/g de tejido húmedo y los del grupo Maíz-Lisina 0.93 ± 0.44 pM/g de tejido húmedo y correspondientes a una disminución del 90% y 77% respectivamente con relación a los del grupo testigo siendo éstos de 4.14 ± 1.31 pM/g de tejido húmedo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Maíz y Maíz-Lisina en ninguna de las edades estudiadas.

DISCUSSION

La desnutrición protéica en ratas inducida posteriormente a su concepción y durante su desarrollo, se ha utilizado ampliamente como modelo en una gran variedad de estudios. Se conoce que en los animales tratados bajo estas condiciones se producen cambios substanciales en el crecimiento corporal, así como en la neuroquímica del cerebro (63, 74,-76).

Por su deficiencia en el contenido de proteínas y de los aminoácidos triptófano y lisina, la dieta a base de maíz puede considerarse como un buen modelo experimental para entender los mecanismos de producción de alteraciones bioquímicas, morfológicas y funcionales durante el desarrollo, principalmente en el sistema serotoninérgico (71).

En el presente trabajo y bajo el empleo de este modelo deficiente en proteína y a base maíz se encontró que la desnutrición con esta dieta afecta el peso corporal de las crías en los animales sometidos a la misma (Fig. 5). Así, estos resultados están de acuerdo con lo reportado por otros autores (49,70), lo que indica que el modelo es reproducible, ya que los animales desnutridos prenatalmente ganan menos peso durante la gestación, al nacimiento y durante el desarrollo postnatal (66).

Por otro lado, los requerimientos de aminoácidos necesarios para la síntesis de proteínas en el organismo se adquieren a través de la circulación sanguínea como aminoácidos simples, carbohidratos, fuente de nitrógeno, etc. Sin embargo, para el caso de la síntesis de proteínas existe limitante para sintetizar 9 de estos aminoácidos, que son los llamados esenciales, tales como; fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano y valina, los cuales deben suministrarse en la alimentación (77).

Con base en lo anterior, la reducción en el peso corporal de los animales alimentados con dieta a base de maíz es posible que pueda deberse a una inadecuada disposición de dos de los aminoácidos, triptófano y lisina, lo cual podría afectar la síntesis protéica, puesto que se ha sugerido que el triptófano

parece ser el aminoácido más limitante en dicha síntesis (78) y por lo tanto reducir la formación de masa muscular, lo anterior también se apoya en el hecho de que estudios preliminares en este modelo de desnutrición han demostrado una reducción en la cantidad de proteínas totales y en la concentración de ácido ribonucleico en algunas regiones del sistema nervioso central, lo que sugiere que bajo estas condiciones se produce una reducción en la síntesis de proteínas (49), hecho que deberá de comprobarse al medir directamente la síntesis de proteínas principalmente en otros tejidos.

Por otro lado, respecto al volumen y peso del encéfalo no se observaron diferencias estadísticamente significativas, lo cual permite suponer que estos parámetros no dependen directamente de la alimentación a diferencia de lo que ocurre en otros tejidos, como el muscular y el adiposo, que poseen la capacidad de almacenamiento nutritivo, mientras que posiblemente durante la gestación el desarrollo del cerebro puede ser favorecido nutritiva ó metabólicamente en forma primordial, ya que existen mecanismos homeostáticos para proteger al cerebro contra las fluctuaciones en la disponibilidad de nutrientes esenciales que modifican la neuroquímica del cerebro (50). En los últimos años se han reportado trabajos sobre la relación existente entre la nutrición y el desarrollo de los sistemas de neurotransmisión con el presente modelo se establece un principal énfasis el sistema serotoninérgico (58-60), por las implicaciones psicopatológicas que posee la 5HT en el sistema nervioso central, ya que, al inducir una reducción en los niveles de 5-HT en sujetos normales, se puede lograr inhibir la síntesis de esta amina bajo dos maneras diferentes; a) farmacológicamente, en cuyo caso una limitante en este procedimiento es la toxicidad e inespecificidad del fármaco y b) por reducción en el aporte del precursor, el triptófano, con la ventaja que resulta ser un modelo más natural. En ambas formas, la actividad de la triptofano hidroxilasa se encuentra a un 50% de la saturación, por lo que una reducción en la disponibilidad de triptófano.

también se reduce la velocidad de síntesis de 5-HT. Así, diversos estudios han demostrado una disminución en los niveles de 5-HT en varias regiones del cerebro siguiendo el mismo modelo de desnutrición, lo cual demuestra una alteración en la transmisión serotoninérgica; también se ha encontrado un incremento en la cinética de captación para este neurotransmisor, lo cual pudiera reflejar un mecanismo de compensación, el cual demuestra la plasticidad que existe en el SNC (79).

Un mecanismo bien conocido de plasticidad neuronal es el que se presenta cuando hay un incremento en el número de receptores como respuesta a la disminución en la concentración de un neurotransmisor a nivel sináptico; éste parece no ser el caso para el presente estudio, ya que se encontró una evidente disminución en el número de receptores 5-HT, al nacimiento (Fig. 7). Esto puede explicarse en parte a la posible pérdida de células neuronales en el tallo cerebral, como se ha sugerido en experimentos preliminares realizados en éste mismo modelo de estudio por una reducción en la concentración de ADN en esta misma región (49), ya que estudios recientes de histoquímica por hibridización in situ demuestran que en varios núcleos del tallo cerebral existen células que expresan el ARNm para receptores 5-HT, (80).

Otra posibilidad para explicar la disminución en el número de receptores 5-HT, puede ser a través de una reducción en la expresión del gen que codifica para estos receptores ó a la síntesis de la proteína correspondiente, ya que se ha observado un disminución en el contenido de RNA y proteínas en varias regiones del SNC, principalmente en tallo cerebral de ratas tratadas bajo el mismo esquema del presente estudio (69-71), así como estudios recientes de biología molecular sobre el receptor a 5-HT, que demuestran un requerimiento de triptófano del 1.5% para conformar su estructura (31) lo que puede significar una limitante adicional en la síntesis y/o expresión de este receptor a nivel sináptico.

Finalmente, si existe algún cambio en la afinidad del ligando por el receptor ó cambios en la estructura molecular de la proteína receptora 5-HT, que induzcan a una modificación en el reconocimiento del receptor por su ligando, con los resultados obtenidos en el presente trabajo, no es posible conocerlo, por lo que será necesario realizar estudios adicionales para demostrar plenamente una reducción en la expresión selectiva del gen correspondiente ó su posible modificación estructural como posibles mecanismos compensatorios bajo condiciones de restricción de triptófano.

CONCLUSIONES

1. La alimentación a base de maíz induce una reducción del peso corporal que es evidente desde la gestación (18vo día).

2. La deficiencia de triptófano en la dieta maternal no modifica el peso aparente del encéfalo en los productos.

3. La restricción de triptófano induce una importante reducción en el número de receptores 5-HT₁ en el SNC.

4. La deficiencia en el aporte de triptófano en la dieta modifica la neurotransmisión 5-HTérgica en el desarrollo del SNC cuyas repercusiones en el adulto aún no se conocen.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Weichert y Presch Elementos de Anatomía de los Cordados. Ed. Mc Graw Hill. 4a. ed. México, 1986, 400-403.
- 2.- Alvarez J. Anatomía Comparada Básica. Ed. Trillas. 1a. ed. México, 1979, 509-512.
- 3.- Balinsky B.I. Introducción a la Embriología. Ed Omega. 5a. ed. Barcelona. 1983, 389.
- 4.- Dollander A. y Fenart R. Elementos de Embriología. Ed. Limusa. 1a ed. México. 1986, 336-337.
- 5.- Keith L. M. Embriología clínica. Ed. Interamericana 1a.ed. México. 1971, 353-355.
- 6.- Rouviere H. y Deimas A. Anatomía Humana. Ed. Masson. 9a. ed. España. 1987, 666-680.
- 7.- Lawrence. Pansky y Siegel. Neurociencias, Enfoque sistemático. Ed. Mc Graw Hill. 1a. ed. México, 1982.
- 8.- Keith L.M. Embriología Clínica. Ed, Interamericana. 2a.ed. México, 1983.
- 9.- Langman J. Embriología Médica. Ed. Interamericana. 2a. ed. México 1969, 286-290.
- 10.- Somjen Neurofisiología. Ed. Médica Panamericana. 1a ed. Buenos Aires, 1986.
- 11.- Leger L., Charnay Y., Dubois P.M. y Jouvét M. (1986) Distribution of Enkephalin Immunoreactive Cell Bodies in Relation to Serotonin Containing in the raphe nuclei of the cat: Immunohistochemical evidence for the coexistence of enkephalins and serotonin in certain cells. Brain Res 362, 63-73.
- 12.- Descarries L., Watkins K.C., García S. y Beaudet A. (1982) The serotonin neurons in nucleus raphe dorsalis of adult rat: A light and electron microscope radioautographic study. J Comp Neurol 207, 239-254.
- 13.- McGeer P.L., McGeer E.G. y Hattori T. (1979) Biochemical interactions in the basal ganglia. Prog Brain Res 51, 285-301.
- 14.- Lauder J.M., Wallace J.A., Krebs H., Petrusz P. y McCarthy, K. (1982): In vivo and in vitro development of serotonin neurons. Brain Res Bull 9, 605-625.

- 15.- Moore R.Y. The anatomy of central serotonin neurons system in the rat brain. Jacobs E.L. y Geiperin A. (eds.) the MIT press. Massachusetts, U.S.A.
- 16.- Parent A. (1981) The Anatomy of Serotonin-containing neurons across Phylogeny. In: Serotonin Neurotransmission and Behavior. Jacobs B.L. 1, 3-34.
- 17.- Jacobs B.L. y Alan G. Serotonin Neurotransmission and Nervous System. Lajtha A. (Ed). Plenus Press 11, 629-44.
- 18.- Tissari A.H. y Bogdanski (1971) "Biogenic amine transport, VI. Comparison of effects of ouabain and K⁺ deficiency on the transport of 5-hydroxytryptamine and norepinephrine by synaptosomes". Pharmacol 5, 225-234;
- 19.- Fernstrom J.D. y Wurtman R.J. (1971). Brain Serotonin content: Physiological dependence on plasma tryptophan levels. Science 173, 149-152.
- 20.- Feria V.A., Martínez M.D. y Rubio D.F. (1986) Epilepsia, Un Enfoque Multidisciplinario. Ed. Trillas; 1a Ed. México, 125-127.
- 21.- Siegel G., Agranoff B., Albers R.W. y Molinoff P. (1989) Basic Neurochemistry. 4th Ed; Raven Press. NY 12, 262-269.
- 22.- Levitt P., Pintor J.E. y Breakefield X.O. (1982) Immunocytochemical demonstration of monoamine oxidasa β in brain astrocytes and serotonergic neurons. Proc Natl Acad Sci USA, 79, 6385-89.
- 23.- Slotsin T.A., Seidler F.J., Withmore W.L., Lau Ch., Salvagio M. y Kirksey D. (1978) Rat brain synaptic vesicles: Uptake specificities of ³H-Norepinephrine and ³H-Serotonin in preparations from whole brain and regions. J Neurochem 31, 961-968.
- 24.- Halaris A.E. y DeMet E.M. (1978) Active uptake of [³H] 5-HT by Synaptic vesicles from rat brain. J Neurochem 31, 591-597.
- 25.- Katz B. y Miledi R. (1967) A study of synaptic transmission in the absence of nerve impulses. J Physiol Lond 192. 407-436.

- 26.- Woodward, D.L., Hoffer, B.J. y Altman, J. (1974): Physiological and pharmacological properties of Purkinje cells in rat cerebellum degranulated by postnatal x-irradiation. *J Neurol* 5, 283-304.
- 27.- Wurtman, J. J., Wurtman, R. J., (1979) Fenfluramine and other serotonergic drugs depress food intake and carbohydrate consumption while sparing protein consumption. *Curr Med Res Opin* 6 (1), 28-33.
- 28.- Wurtman, J.J., Wurtman, R.J. (1981) Suppression of carbohydrate consumption as snacks at mealtime by DL-fenfluramine or tryptophan. In: Garattini, S., Samanin, R. eds. *Anorectic agents: Mechanisms of action and tolerance*. New York. Raven Press 169-182.
- 29.- Tissari, A.H. y Bogdanski, D.F. (1971). Biogenic Amine transport, IV.- Comparison of effects of Dubain and K⁺ deficiency on the transport of 5-Hydroxytryptamine and Norepinephrine synaptosomes. *Pharmacology* 5, 225-234.
- 30.- Bouillon A.A., Baker G.B. y Hrdina P.D. (1986): *Neuromethods: 4 Receptor Binding*. Humana Press. New Jersey, 93-116.
- 31.- Julius D. (1991): *Molecular Biology of Serotonin receptors*. *Annu. Rev. Neurosci.* 14, 335-60.
- 32.- Blin J., Sette G., Fiorelli M., Bletry O., Elghozi J.L., Crouzel C. y Baron J.C. (1990) A Method for the in vivo investigation of the serotonergic 5-HT₁ receptors in the human cerebral cortex using positron emission tomography and ¹⁸F-labeled Setoperone. *Journal of Neurochemistry*. Raven Press 54 (5) 1744-1753.
- 33.- Bobker D.H. y Williams J.T. (1990) Ion conductances affected by 5-HT receptor subtypes in mammalian neurons. *TINS* 13 (5) 169-173.
- 34.- Tawrog B.M. y Page I.H. (1953) Serotonin content of some mammalian tissues and urine. *Amer J Physiol* 175, 157-161.
- 35.- Heler A.E., Jones B.E. y Moore R.Y. (1962) A demonstration of a falling Brain Serotonin following central nervous system lesions in the rat. *Biochem Pharmacol* 2, 859-866.

- 36.- Lytle L.D., Messing R.B., Fisher L. y Phebus L. (1975) Effects of long-term corn consumption on Brain Serotonin and the response to electrical shocks. *Science* 190, 692-694.
- 37.- Ferstrom J.D. y Wurtman R.J. (1974) *Nutrición y Encéfalo*. 12, 103-111.
- 38.- Coleman D.L. (1960) Phenylalanine hydroxylase activity in dilute and nondilute strains of mice. *Arch Biochem Biophys*. 91, 300-306.
- 39.- Lawrence, Pansky y Siegel *Neurociencias, enfoque sistemático*. Ed. McGraw Hill; 1a ed. México, 1982,
- 40.- Guyton A.C. (1985) *Anatomía y Fisiología del Sistema Nervioso*. Ed. Interamericana; 2a ed. México, 663-672.
- 41.- Fuller R.W. (1986) *Biochemical Pharmacology of the Serotonin System*. *Advances in Neurology*, NY Raven Press, 43, 476.
- 42.- Essman W.B. (1978) Serotonin in learning and Memory. In: *Serotonin and Health and Disease*. Vol.3 *The Central Nervous System*, Essman, W.B. (Ed) NY Spectrum Publications. 64, 143.
- 43.- Page I.H. y Carlsson A. (1970) Serotonin. In: *Hand Book of Neurochemistry*. Volume IV.- *Control Mechanisms in the Nervous System*. Lajtha, A. (Ed) Plenum Press. 11, 692-694.
- 44.- Avitabile M., Serra I.I., Mathias A.P. y Guifrida A.M. (1981) Effect of undernutrition on RNA synthesis in various regions of developing rat brain. *Bull Mol Biol Med* 6, 32-43.
- 45.- Van Geijn H.F., Kayler W.M., Nicola K.R. y Zuspan E. (1980) induction of several intrauterine growth retardation in Sprague-Dawley rat. *Am J Obstet Gynecol* 137-43.
- 46.- Adolfo C. (1981) *Nutrición y Desarrollo cerebral*. *Información Científica y Tecnológica*. 3 (4), 4-8.
- 47.- Myron W. (1976) *Malnutrition and brain development*. Edit. Oxford University Press, 35-92.
- 48.- Morgane P.J., Miller M., Kemper T., Forbes W., Hall R., Bronzino J., Kissane J., Hawrylewicz E. y Resnick O. (1978) The effects of protein malnutrition on the developing Central Nervous System in the rat. *Neurosc & Biobehav Rev* 23, 137-230.

- 49.- del Angel A.R., Beas-Zárate C. y Morales-Villagrán A (1989) Effects on corn-fed and protein restriction on rat cerebellum and brain stem maturation. *Nutr rep int* 40 (6), 1199-1206.
- 50.- Wiggins R.C., Fuller G. y Enna S.J. (1984) Under nutrition and the development of brain neurotransmitter systems. *Life Sci* 35 (21), 2085-94.
- 51.- Wurtman R.J. y Wurtman J.J. (1977) Nutrition and the brain. Raven Press Book, LTD. 2, 148-213.
- 52.- Resnick D. y Morgane P.J. (1984) Generational effects of protein malnutrition in the rat. *Brain Res* 317 (2), 219-27.
- 53.- Srivastava U.S. (1985) Nucleic acid and protein metabolism in undernutrition and protein deficiency. *Prog Food Nutr Sci* 9 (1-2), 63-107.
- 54.- Bernochi G. y Scherini E. (1980) Citochemical data on DNA and protein nuclear content during the prenatal cerebellar histogenesis in the rat. Effects of maternal protein malnutrition. *Cell Mol Biol* 26, 405-413.
- 55.- Tirapegui J.D., De Angelis R.C. (1984) Quality of maternal diet and biochemical changes in the brain of the off spring. Study in rats. *Arq Gastroenterol* 21 (2), 78-82.
- 56.- Nowack T.S.Jr. y Munro H.N. (1977) Effects of protein caloric malnutrition on biochemical aspects of brain development. In nutrition and the brain. Wurtman R.J. y Wurtman J.J. Raven Press, 2, 194-264.
- 57.- Tissari A.R. (1973) Serotonergic mechanisms on ontogenesis. *Fetal Pharmacology*, Edit. by L. Boreus, Raven Press. 237-257.
- 58.- Lauder J.M., Wallacw J.A., Krebs H., Petrusz P. y Mc Carthy, K. (1982) In vivo and in vitro development of serotonergic neurons. *Brain Res* 9, 605-625.
- 59.- Fernstrom J.D. (1981) Physiological control of brain serotonin synthesis: Relevance to physiology and behavior. In: Serotonin neurotransmission and behavior (Ed) Jacobs B.L. and Gelperin A. The MIT Press, London, Eng. 3, 75-102.

- 60.- Trulson M.E. (1985) Dietary tryptophan does not alter the function of brain Serotonin neurons. *Texas Life Sciences*, 37, 1067-1072.
- 61.- Fernstrom J.D. y Hirsch M. (1977) Brain serotonin synthesis reduction in corn-malnutrition rat. *J Neurochem.* 28, 877-79.
- 62.- Fernstrom J.D. y Hirsch M.J. (1975): Rapid repletion of brain serotonin malnourished corn-fed rats following L-tryptophan injection. *Life Sci.* 17, 455-64.
- 63.- Del Angel A.R. y Sotelo A. (1982) Nutritive value of mixtures using chick-peas with wheat, triticale, normal and opaque-2 corns. *J Nutr* 112, 1474-80.
- 64.- Howd R.A., Nelson M.F. y Lytle L.D. (1975) L-tryptophan and rat fetal brain serotonin. *Life Sci* 17, 803-12.
- 65.- Baker P.C., Hoff M.M. y Smith M.D. (1974) The maturation of monoamine oxidase and 5-hidroxi-indole acetic acid in regions of the mouse brain. *Brain Res* 65, 255-64.
- 66.- Forbes W.A., Tracy C., Resnick G. y Morgan P.J. (1977) Effects of maternal dietary protein restriction on growth of the brain and body in the rat. *Brain Res Bull* 2, 131-35.
- 67.- Stern W.C., Pugh W.W., Johnson A. y Morgane P.J. (1983) Expontaneous forebrain neuronal activity in developmentally protein malnourished rats. *Develop Brain Res* 9, 95.
- 68.- Hilman D.E. y Chen S. (1981) Vulnerability of cerebellar development in malnutrition. I. Quantitation of layer volume and neuron numbers *Neurosc* 6, 1249.
- 69.- Fernstrom J.D. y Hirsch M.J. (1977) Brain serotonin synthesis: Reduction in corn-malnourished rat. *J Neurochem* 28, 877-879.
- 70.- Beas-Zárate C., del Angel A.R., Morales-Viliagrán A. y Feria-Velasco A. (1989) Serotonin uptake in the central nervous system of the rats fed a corn-diet. *Comp Biochem Physiol* 39 (2), 173-177.
- 71.- Cervantes S.S.G., Tesis Lic. en Biología, Fac. Cs. Biológicas, U. de G. Reg. 078032111 marzo (1987).

- 72.- López A.G. y Aguirre V.O. (1975) Introducción al Citodiagnóstico. 1a. ed. Comisión editorial de la Universidad de Guadalajara. 4-5, 39-52.
- 73.- Yamamura H., Enna S. (1978) Neurotransmitter Receptor Binding. Raven Press NY 41-56.
- 74.- Hirose-T (1992) Effects of nutritional status on contents of tryptophan, serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid in rat brain. Nippon-Eiseigaku-Zasshi 47 (2), 627-633.
- 75.- Tackwan J.M., Tews J.K, Harper A.E. (1990) Dietary disproportions of amino acids in the rat: Effects on food intake, plasma and brain amino acids and brain serotonin. J Nutr 120 (5), 521-33.
- 76.- Gambardella P., Greco A.M., Sticchi R. y D'Aponte D. (1990) Circadian rhythm variations in the adult rat induced by low and high protein diets administered at various stages of development. Chronobiol Int 7 (1), 43-50.
- 77.- Mayes P.A., Rodwell V.W. y Martin D.W. (1984) Bioquímica de Harper. Ed. El Manual Moderno. 9 ed. 591-612.
- 78.- Winick M. (1976) Malnutrition and brain development. London. 3, 63-80.
- 79.- Genel E.A., Tesis Lic. en Biología, Fac. Cs. Biológicas, U. de G. Reg. 078463377 marzo (1986).
- 80.- Bryan L.R., Hamblin M.W. y Ciaranello R.D. (1991) Developmental regulation of 5-HT₁ and 5-HT₂ mRNA and receptor levels. Brain Res 58, 51-58.

RELACION DE
TABLAS Y
FIGURAS

F I G U R A 1

DIVISIONES ONTOGENETICAS DEL CEREBRO.

En esta figura se representan las etapas primitiva (Izquierda) y avanzada (Derecha) del desarrollo ontogenético del sistema nervioso central en los mamíferos.

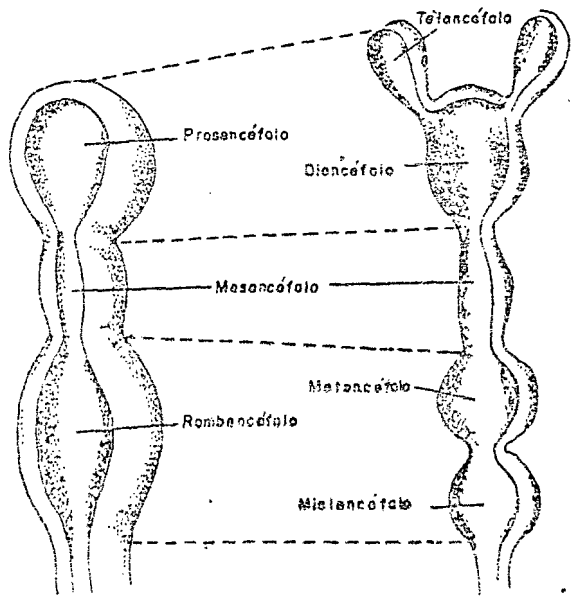
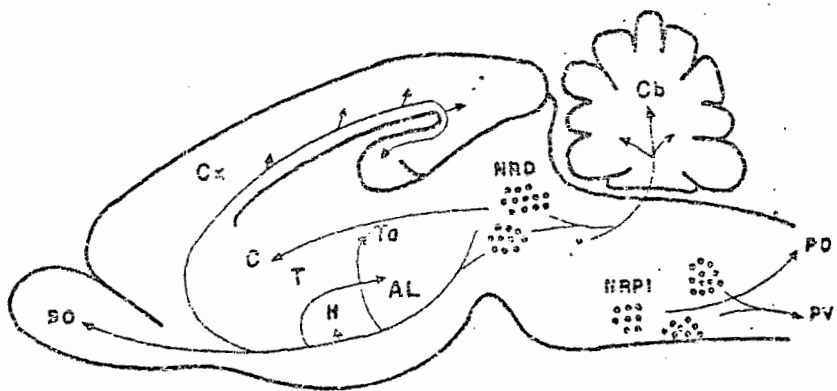


FIGURA 2

DISTRIBUCION DE LAS VIAS NEURONALES SEROTONINERGICAS EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

(a) Localización de los principales cuerpos celulares; (NRD) núcleos del rafé dorsal; (NRPI) núcleos del rafé de la porción inferior, (PD) porción dorsal y (PV) porción ventral de la médula espinal; (Cb) cerebelo; (AL) áreas límbicas; (H) hipocampo; (Ta) tálamo; (T) telencéfalo; (BO) bulbo olfatorio; (Cx) corteza cerebral y (C) cuerpo estriado.



F I G U R A 3

SINAPSI S EROTONINERGICA.

En esta figura se puede apreciar la síntesis de la 5-HT a partir del triptófano, su almacenamiento en vesículas y la liberación al espacio intersináptico, así como la unión con el receptor en la terminal postsináptica y su inactivación por recaptura.

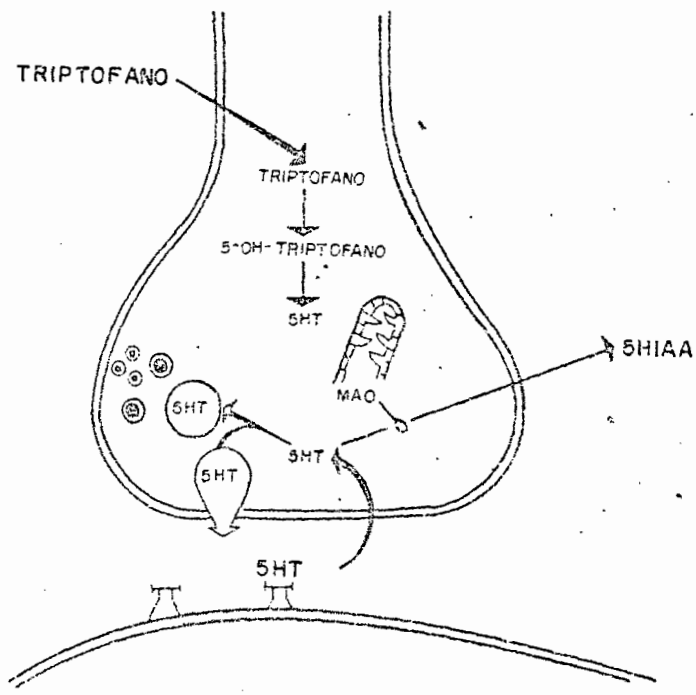
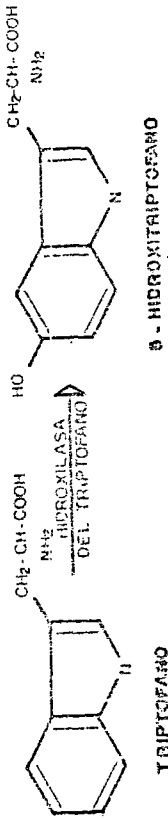


FIGURA 4

METABOLISMO DE LA SEROTONINA.

En esta figura se describen las vías metabólicas que inducen a la síntesis de la 5-HT a partir del precursor triptófano, y la degradación a su metabolito final, el ácido 5-HIAA, así como las enzimas que intervienen en cada caso.



DESCARBOXILOSA DE 5 - HIDROXITRIPTOFANO
 (DESCARBOXILOSA DE LOS AMINOACIDOS AROMATICOS)

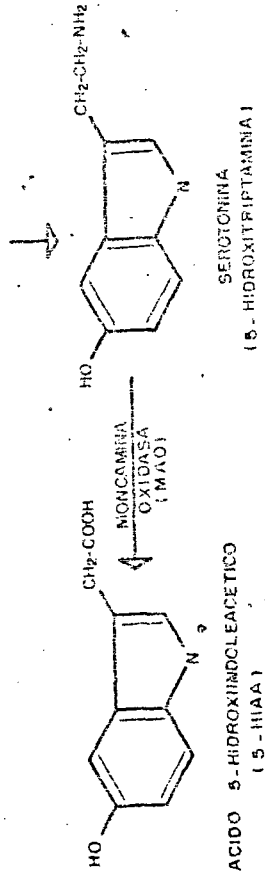
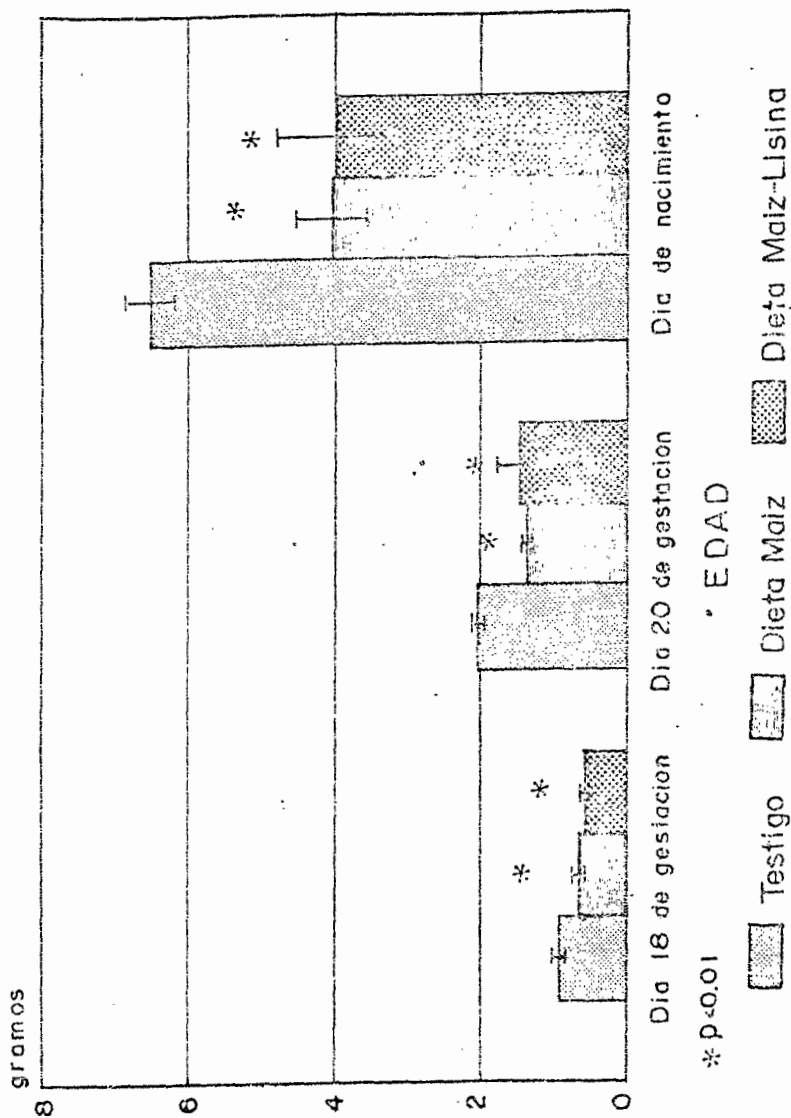


FIGURA 5

PESO CORPORAL

En esta gráfica se muestra el peso corporal de las crías durante el desarrollo perinatal de los animales sometidos a diferentes dietas. Los resultados se expresan en gr y representan la media \pm desviación estándar de 4-6 experimentos y determinaciones por duplicado.

Peso corporal



F I G U R A 6

PESO DEL ENCEFALO.

En esta figura se muestra el peso del encéfalo de las crías en las diversas edades estudiadas. Los resultados expresan en mg y representan la media \pm desviación estándar de 4-6 experimentos y con determinaciones por duplicado.

Peso encefalo

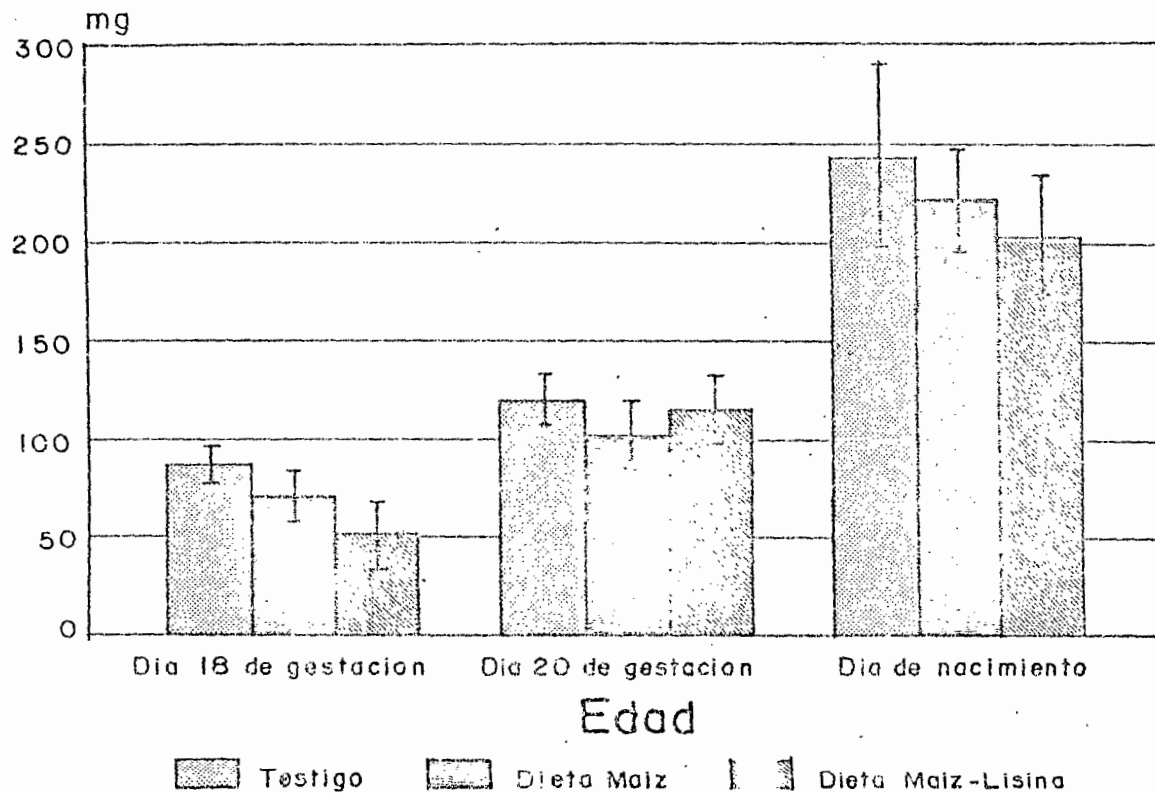
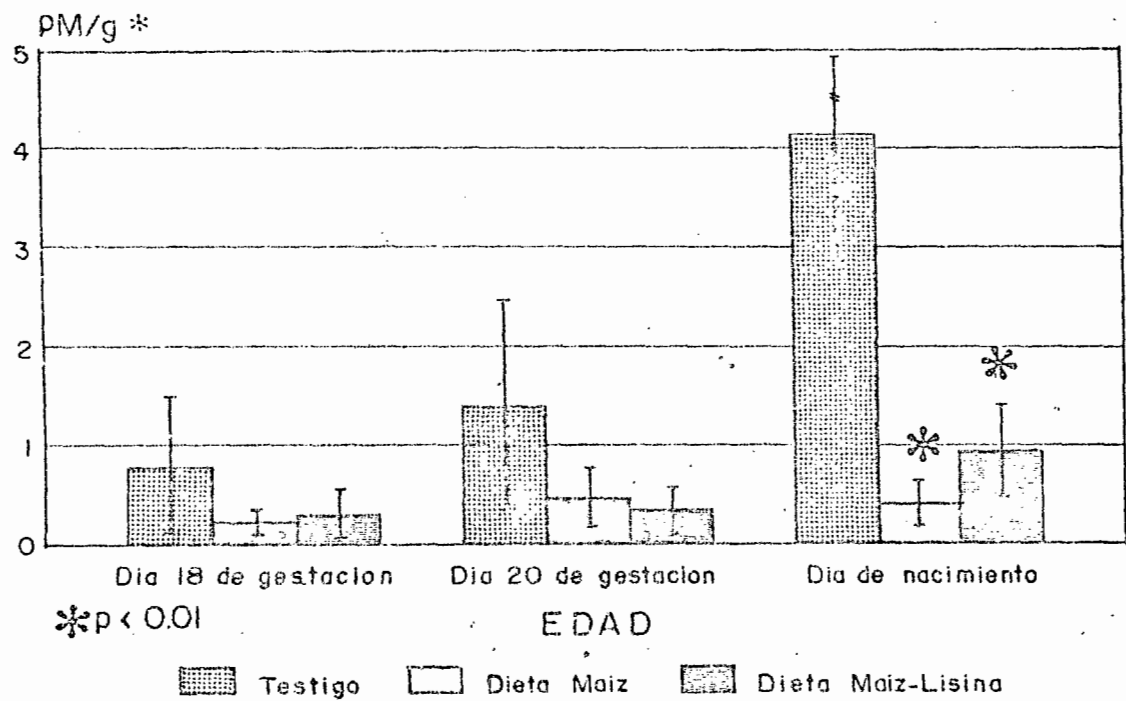


FIGURA 7

CUANTIFICACION DE RECEPTORES A SEROTONINA

En esta gráfica se muestra la unión de espiperona- $[^3H]$ en fracciones membranales de encéfalos de productos alimentados con diferentes dietas y en diversas edades. Los resultados expresan pmoles/gr tejido húmedo/ h y representan la media \pm desviación estándar de 4-6 experimentos por y con determinaciones por duplicado.

CUANTIFICACION DE RECEPTORES 5-HT₂



* Tejido humedo

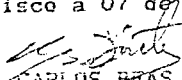
DR. JUAN LUIS CIFUENTES LEMUS
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
P r e s e n t e.

Por este conducto me permito comunicar a usted que después de revisar el trabajo de la pasante de Biología Srta. CLAUDIA HURTADO GONZALEZ, creo que reúne satisfactoriamente todos los elementos necesarios para dar por concluido su trabajo de Tesis el cual se intitula: "CUANTIFICACION DE RECEPTORES A SEROTONINA (5-HT) DURANTE LA ETAPA PERINATAL DE RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA A BASE DE MAIZ".

En espera de contar con su aceptación agradezco de antemano sus atenciones y aprovecho la oportunidad para saludarlo afectuosamente.

A T E N T A M E N T E

Guadalajara, Jalisco a 07 de julio de 1993.


M. en C. CARLOS BEAS ZARATE
Director de tesis



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Expediente

Número

Sección

SRITA. CLAUDIA HURTADO GONZALEZ

P R E S E N T E . -

Mediante la presente me permito informar a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de tesis "CUANTIFICACION DE RECEPTORES A SERATONINAS (5-HT) DURANTE LA ETAPA PERINATAL DE RATAS ALIMENTADAS CON UNA DIETA A BASE DE MAIZ" para obtener la licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informo que ha sido aceptado como Director de dicha tesis el M. en C. Carlos Beas Zarate.

A T E N T A M E N T E

"PIENSA Y TRABAJA"

Guadalajara, jal., 23 de Marzo de 1993

EL SECRETARIO

ENCARGADO DEL DESPACHO DE LA DIRECCION



FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS

BIOL. JESUS ALBERTO ESPINOSA ARIAS

c.c.p- El M. en C. Carlos Beas Zarate, Director de tesis.-pte.

c.c.p- El expediente del alumno

JAEA/cg1r.