

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



EFFECTOS DE LA RESTRICCIÓN PROTEICA SOBRE EL DESARROLLO
DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL. DE LAS CAMADAS DE
RATAS DESNUTRIDAS ANTES Y DURANTE LA GESTACION

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A N

RAFAEL DEL ANGEL MEZA

GUILLERMO RUIZ CANO

A S E S O R

M. EN C. ALMA ROSA DEL ANGEL MEZA

GUADALAJARA, JALISCO. 1991

AGRADECIMIENTOS

Quiero en esta oportunidad hacer patente mi agradecimiento a Dios por que puso en mi camino a tanta gente positiva que ha servido de guía en mi vida.

A todos mis maestros quienes me han enseñado las bases para ejercer una carrera muy hermosa con responsabilidad y entusiasmo.

A mis compañeros con quienes compartí un poco de mi vida a todos y cada uno de ellos les deseo el mejor de los éxitos en todos los ámbitos de sus vidas.

a nuestro asesor la M. en C. Alma R. del Angel por su paciencia y dedicación en el trabajo y muy especialmente en el presente modelo que diseñó y la oportunidad que nos brindó de poder ayudar a llevarlo a cabo.

Oc. Rolando del Angel que nos brindó un apoyo incondicional y corrigió nuestras faltas ortográficas.

Y muy especialmente a mis padres quienes han servido de conducto y guía en mi vida, a ellos que nunca me retiraron ni mucho menos condicionaron su apoyo en los momentos más difíciles de mi existencia, por la carrera y la vida que me regalaron, por su comprensión, por su amor y entrega gracias.

Así mismo a mis hermanos por sus palabras siempre de aliento.

También de mis amigos, aquellos que una vez me enseñaron a conservar la esperanza en la vida y me impulsaron a seguir siempre adelante

Por todo y a todos gracias

Guillermo Ruíz Cano

AGRADECIMIENTOS

A tí por que me diste la vida y siempre estas a mi lado mostrandome el sendero de la verdad y el amor.

A mis padres por darme los cimientos y principios; guiarme, amarme y apoyarme.

A mis hermanos que siempre estuvieron conmigo dandome la mano en todo lo que necesite.

A quien me dió un gigantesco amor, comprensión y fuerzas para poder realizarme, GRACIAS Laura Edith.

A mis maestros por darme esos conocimientos tan valiosos que ahora me permiten comenzar esta hermosa profesión.

A mis amigos y compañeros con quienes he compartido esta bonita etapa de mi vida, por ayudarme de un modo u otro a realizar esta meta.

Un agradecimiento especial a mi hermana M.C. Alma Rosa por permitirme colaborar en la investigación presentada y por su atinada dirección.

RESUMEN

En el presente trabajo se utilizaron ratas que fueron alimentadas con dos dietas diferentes (23% y 6% de proteína) para evaluar los efectos que nos produce la restricción proteica sobre el peso corporal, cerebral, cerebelar y diámetros de cerebro y cerebelo, en correlación con parámetros bioquímicos que indiquen celularidad (ADN, ARN y Proteínas).

Los animales se alimentaron durante 8 semanas antes del apareamiento y durante la gestación observando su consumo de alimento. Para obtener ratas recién nacidas desnutridas y proceder a las determinaciones antes mencionadas.

Los resultados obtenidos muestran una notable diferencia en los pesos del cuerpo y cerebelo; en el diámetro transversal de cerebro y cerebelo, así como en el contenido de ácidos nucleicos de ambos órganos de las camadas de animales restringidos. Mientras que no hubo cambios aparentes en el conteo de proteínas, sin embargo las variaciones en la relación ARN/proteínas y proteínas/ADN representa algún déficit en la actividad metabólica en el sistema nervioso central en el grupo de los animales restringidos.

Lo que nos ocasiona un retraso permanente en el crecimiento o bien una baja significativa en el porcentaje de fertilidad e incapacidad del desempeño óptimo de los animales.

INDICE GENERAL

	PAGINA
RESUMEN.....	I
INDICE GENERAL.....	II
LISTA DE TABLAS.....	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
INTRODUCCION.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
JUSTIFICACION.....	5
HIPOTESIS.....	6
OBJETIVOS.....	7
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS.....	13
DISCUSION.....	22
CONCLUSIONES.....	25
REFERENCIAS.....	26

LISTA DE TABLAS

PAGINA

Tabla 1. Composición de las dietas.....	9
Tabla 2. Relación del incremento de peso por consumo de alimento.....	14
Tabla 2a Relación de incremento de peso antes de la gestación.....	14
Tabla 3. Pesos corporal, cerebral y cerebelar en ratas recién nacidas sometidas a res- tricción proteica.....	16
Tabla 4. Contenido cerebral y cere- belar de ADN, ARN y Protei- nas en ratas recién nacidas sometidas a restricción pro- teica.....	19
Tabla 5. Cambios celulares en las ratas recién nacidas.....	21

LISTA DE FIGURAS

	PAGINA
Figura 1. Diametros.....	11
Figura 2. Diametros de cerebro y cerebelo de ratas normales y restrin- gidas.....	17

INTRODUCCION

Los efectos de la desnutrición sobre el desarrollo y función del cerebro han sido estudiados por numerosos investigadores en diversos modelos animales, debido a que provee un modelo útil para el estudio de la adaptabilidad y plasticidad neuronal. (1-7)

Se sabe que la desnutrición producida en etapas tempranas del desarrollo produce permanentes alteraciones en las características anatómicas, bioquímicas y funcionales del cerebro (2-14), con reducción del área total y del espesor de la corteza cerebral, lo cual se correlaciona con una disminución en el número y tamaño de las neuronas y de sus arborizaciones dendríticas (15,16)

La desnutrición produce también alteraciones en el desarrollo y maduración de la sinápsis (17), donde se observa una disminución en el número y tamaño de las mismas y en el número de vesículas sinápticas . En cuanto a la maduración glial en esas condiciones, esta es insuficiente y retardada, el número de células gliales se encuentra reducido hasta en un 50 % a los 10 días de edad en los tractos cuneatus y gracilis y la densidad de células gliales esta reducida también en un 50 % en el cuerpo calloso a los 19 días de edad (6).

Desde el punto de vista bioquímico, algunos trabajos muestran que la desnutrición en etapas tempranas del desarrollo retarda la síntesis de mielina en todas las regiones del cerebro y del mismo modo se encuentran disminuidas las síntesis de ADN, ARN y proteínas, lo que se manifiesta por una disminución en la celularidad y alteración en la neurogénesis (3,11,12,15,18).

Algunos autores con el uso de diferentes modelos de desnutrición y rehabilitación comunican que aunque el cerebro y cerebelo muestran algunas modificaciones durante la rehabilitación no logran alcanzar sus valores normales tales como peso del cerebro y cerebelo, área de capas molecular y granular interna de cerebelo, número de células granulares y de Purkinje, tamaño y morfología del árbol dendrítico (5,13,17,18). Sin embargo Angulo Colmenares y Col. (4) utilizan tres modelos de rehabilitación combinados y muestran que la recuperación de la corteza cerebral es completa tanto en las dimensiones como en la estructura de las células neuronales.

Es posible que las diferencias de estos resultados sean debidas por un lado al modelo de rehabilitación

utilizado y por otro al tipo y grado de desnutrición.
Así como las reservas metabólicas maternas durante la
etapa de gestación y lactancia.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La necesidad de conocer si los estados de desnutrición retardan el desarrollo y/o producen cambios irreversibles en el sistema nervioso central, ha llevado a diversos autores a la utilización de diferentes modelos de desnutrición sin llegar a determinar el papel que juegan las reservas nutritivas de la madre en la formación del feto.

JUSTIFICACION

Por esta razón se ha planteado un estudio, que comprenda la eliminación de las reservas nutritivas de la madre, sometiendo a *RESTRICCION PROTEICA* desde 2 meses antes del apareamiento y durante la gestación; que nos permita observar sus efectos en el desarrollo de cerebro y cerebelo de sus camadas.

Dicho estudio puede ser aplicado en algunas otras especies animales monogástricas ; ya que un trabajo de esta naturaleza llevado a cabo en cerdos o caninos puede resultar muy costoso debido a la falta de infraestructura y al tiempo necesario para el estudio.

HIPOTESIS

Si las reservas alimenticias de la madre pueden ser movilizadas para proteger al feto contra estados de desnutrición, al agotar dichas reservas metabólicas de la madre durante la gestación, el cerebro y cerebelo de los fetos se verá severamente afectado en su contenido celular, tamaño y peso.

OBJETIVOS

GENERAL:

Determinar los efectos de la restricción protéica sobre cerebro y cerebelo de los neonatos inducida 2 meses antes del periodo gestacional y a través de la misma.

PARTICULARES:

1. Observar modificaciones en el peso corporal, cerebral y cerebelar.
2. Determinar modificaciones en los diámetros antero-posterior, transversal y dorsoventral de cerebro y cerebelo.
3. Cuantificar contenidos de ADN, ARN y proteínas en cerebro y cerebelo.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 20 ratas hembra virgenes de aproximadamente 110 dias de edad y 6 ratas macho adultos esto es de 6 meses de edad de la cepa *Sprague Dawley*, los cuales se mantuvieron bajo condiciones de bioterio con ciclos de 12 horas luz por 12 horas de obscuridad, a $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 50 % de Humedad relativa ambiental.

Las ratas hembra se separaron en dos grupos para ser alimentadas *ad-libitum* con dos dietas diferentes (tabla 1), 10 de ellas se alimentaron con una dieta con 23 % de proteínas a base de caseína y se utilizaron de testigos; las otras 10 se alimentaron con una dieta con el 6 % de proteína a base de caseína y fueron denominadas experimentales.

Todas las hembras se alimentaron con sus respectivas dietas durante 2 meses antes de ser apareadas a razón de 3 hembras por un macho en lapsos de 10 días y durante la gestación, se observó tambien su consumo de alimento.

Para el diagnóstico de gestación el día uno de la misma se tomó como positivo ante la aparición de

TABLA 1 COMPOSICION DE LAS DIETAS
(gramos/100 g de dieta). *

INGREDIENTE	DIETA CONTROL	DIETA RESTRINGIDA
CASEINA	26.5	6.9
SACAROSA	28.1	26.5
GLUCOSA	19.8	24.5
DEXTRINA	10.4	16.5
MANTECA VEGETAL	8.8	8.8
ACEITE VEGETAL	6.8	6.8
SALES	4.8	4.8
MINERALES R.H.	4.8	4.8
MEZCLA DE VITAMINAS	2.8	2.8
CELULOSA	4.8	5.6
TOTAL	188.8	188.8
% PROTEINA	23.8	6.8

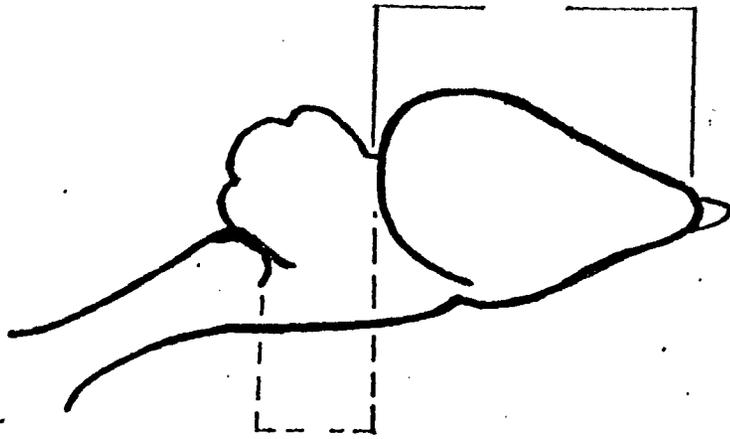
* LAS DIETAS APORTAN UN TOTAL DE 428 KCAL. / 100 Gr. DE DIETA

espermatozoides en el frotis vaginal el cual fué tomado con la técnica de Papanicolaou (19).

Las crías se separaron al azar, se pesaron y sacrificaron al nacimiento por decapitación, para los estudios bioquímicos se obtuvieron y pesaron cerebro y cerebelo para determinar en estos el contenido y concentración de ADN, ARN y proteínas según procedimientos de Burton (20); Webb (21) Lowry y col (22) respectivamente.

Para el estudio morfométrico, los animales fueron anesteciados y perfundidos via intracardiaca con solución Ringer-krebs; pH 7.2 (320 mOsm/l) por 2 minutos, seguidos por una perfusión con una solución buffer-glutaraldehido (2% glutaraldehido, 0.1 M fosfato buffer, 1% sacarosa) ajustado a un pH de 7.2 teniendo una osmolaridad de 450-460 mOsm/l por 15 minutos a una presión de 140 cm^3 . (23)

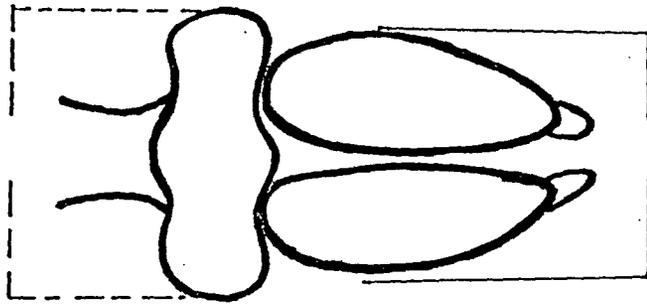
Al término de la perfusión se hizo craneotomía y se extrajo el encéfalo para separar el cerebelo del cerebro; los diámetros antero-posterior, transverso y dorso-ventral fueron medidos con un vernier caliper, de acuerdo a la orientación utilizada por Angúlo-Colmenares y Col. (4). (figura 1).



A



B



C

FIG. 1
 DIAMETROS:
 CEREBRAL (—————)
 CEREBELAR (-----)
 A= DIAMETRO ANTERO-POSTERIOR
 B= DIAMETRO DORSO -VENTRAL
 C= DIAMETRO TRANSVERSO

Los resultados obtenidos fueron trabajados estadísticamente con el método de t' de Student (24).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, muestran que los animales restringidos consumen menor cantidad de alimento que los controles, en un 11.3%. Lo que se refleja en una pérdida de peso corporal conforme transcurre el tiempo de restricción; al inicio de la gestación los animales mostraron un promedio de peso de 285 ± 5.0 Y 257 ± 6.5 g. en los animales control y restringidos respectivamente. (Tablas 2 y 2a).

También se vió afectada la fertilidad ya que mientras los animales control mostraron un 80% de fertilidad con un promedio de 12 crias por camada, contra los restringidos solo el 50% llegó a gestar, además de que se observó un 65% de mortalidad de las crias de los animales de este grupo experimental que en promedio fué de 7 miembros por camada; por lo cual solo se contó con 13 crias para las determinaciones programadas.

Sin embargo, a pesar de que la reducción en el peso corporal de las camadas obtenidas llega a ser hasta de un 23%, el peso del cerebro completo no se ve

TABLA 2.

RELACION DEL INCREMENTO DE PESO POR CONSUMO DE ALIMENTO

RATAS	PROMEDIO DE CONSUMO DE ALIMENTO / DIA (g).	GANANCIA DE PESO/ 21 DIAS (g)	GANANCIA DE PESO/ 100 g DE ALIMENTO CONSUMIDO
CONTROL	115.0	37.00 ± 7.33	1.53
RESTRINGIDAS	102.0	23.33 ± 5.17	1.09

± = D.E.M. (desviacion estandar media).

TABLA 2a.

RELACION DE INCREMENTO DE PESO ANTES DE LA GESTACION

	PESO INICIAL	PESO INICIO DE LA GESTACION	INCREMENTO EN 8 SEMANAS
CONTROL	218.02 ± 11.6 g.	285 ± 5.0 g.	66.98 g.
RESTRINGIDAS	218.25 ± 11.7 g.	257 ± 6.5 g.	38.75 g.

aparentemente afectado y más aún al obtener las proporciones entre el peso corporal y el peso cerebral, se observó que estos fueron de un 4% y 5% entre los animales control y restringidos respectivamente (tabla 3).

Ahora bien al comparar estos datos en cerebelo, se pudo observar que en este órgano se encuentra significativamente disminuido en los animales restringidos tanto en su peso que fué de 10.81 ± 0.03 mg. y 8.61 ± 0.19 mg. entre controles y restringidos respectivamente, como en su proporción con el peso cerebral donde muestra ser de un 3.5% en los animales restringidos y un 4.7% en los normales (tabla 3).

Al determinar las mediciones de ambos organos se encontró que los diámetros antero-posterior y dorso-ventral de los hemisferios cerebrales y cerebelares no fueron significativamente afectados por la restricción alimenticia en el modelo usado para el presente trabajo. sin embargo, los diámetros transversos estuvieron disminuidos significativamente tanto en cerebro como en cerebelo de los animales restringidos (figura 2).

Respecto a las mediciones bioquímicas de ADN,ARN y

TABLA 3.
 PESOS CORPORAL CEREBRAL Y CEREBELAR EN RATAS RECIEN NACIDAS SOMETIDAS A RESTRICCIÓN
 PROTEICA.

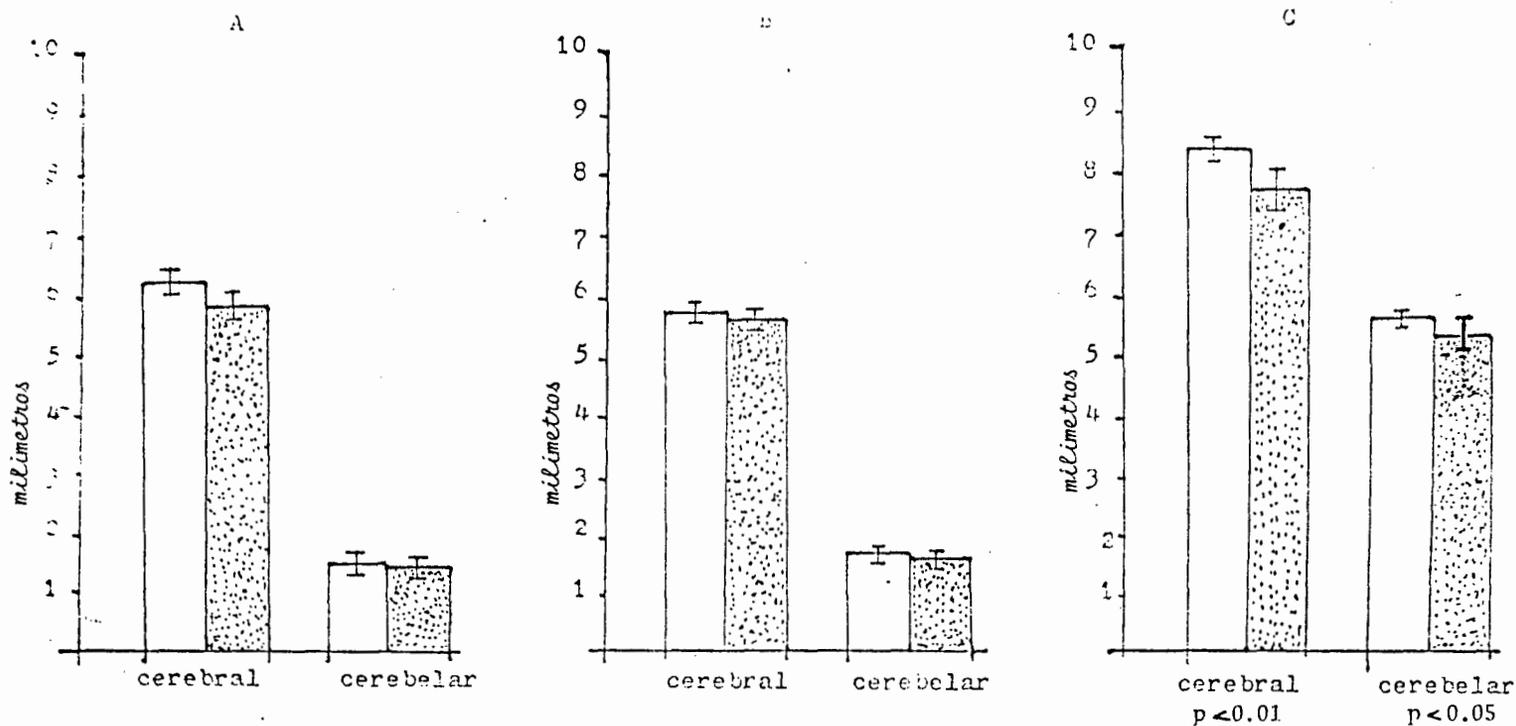
PESO	CONTROL (15)	RESTRINGIDAS (13)
CORPORAL (g)	5.70 ± 0.08	4.40 ± 0.08 _a
CEREBRAL (mg)	230.36 ± 12.30	244.60 ± 3.90
CEREBELAR (mg)	10.81 ± 0.03	8.61 ± 0.19 _a

Los valores representan la media ± D.E.M.

Los numeros en los parentesis indican el numero de animales estudiados en cada grupo.

_a = Significativamente diferente de los controles a (p < 0.001)

fig. 2 Diametros de cerebro y cerebello de ratas normales y restringidas



□ CONTROL
 ■ RESTRINGIDOS
 + D.M.E.

A) Antero-posterior ; B) Dorso-ventral y C) Transverso

proteínas. El ADN cerebral y cerebelar de animales restringidos mostraron una reducción del 37% y 68% respectivamente; mientras que el contenido de ARN disminuyó en 41% y 60% en cerebro y cerebelo respectivamente. No hubo diferencias aparentes en el contenido de proteínas de cerebro y cerebelo entre los animales normales y los restringidos, aunque se encontraron desviaciones estandar muy elevadas (tabla 4).

Al considerar que 6.2 pg. de ADN es el contenido promedio por célula diploide en la rata (20), se observó una reducción considerable en el número de células por gramo de tejido fresco en el cerebelo de animales restringidos (68%); mientras que sólo el 37% de reducción en el número de células fué visto en el cerebro de estos animales.

La variación en la relación ARN/proteínas y proteínas/ADN fué más evidente en el tejido cerebelar que en cerebro, mientras que hubo una disminución en la relación ARN/proteínas del 46% en cerebelo y del 24% en cerebro de animales restringidos en comparación con los valores de ratas normales.

TABLA 4.

CONTENIDO CEREBRAL Y CEREBELAR DE ADN, ARN Y PROTEINAS
EN RATAS RECIEN NACIDAS SOMETIDAS A RESTRICCION PROTEICA

PARAMETRO	CONTROL (18)		RESTRINGIDOS (9)	
	CEREBRAL	CEREBELAR	CEREBRAL	CEREBELAR
ADN	3.13 ± 0.13	5.69 ± 0.56	1.96 ± 0.035 _a	1.82 ± 0.20 _b
ARN	9.81 ± 0.849	8.64 ± 0.85	5.35 ± 0.83 _a	3.42 ± 0.44 _b
PROTEINAS	102.13 ± 35.42	36.28 ± 7.18	79.65 ± 0.64	26.42 ± 5.97

Los valores estan expresados en ng /g de tejido y representan la media ± D.E.M.

Los numeros en los parentesis indican el numero de animales estudiados en cada grupo

Significativamente diferentes de los valores normales; _a = p < 0.001 y _b = p < 0.01

La relación proteínas/ADN aparece incrementada en un 56% y 16% en cerebro y cerebelo respectivamente, en animales restringidos cuando se compararon con valores de ratas normales (tabla 5).

TABLA 5

CAMBIOS CELULARES EN LAS RATAS RECIENTE NACIDAS

	CEREBRO		CEREBELO	
	CONTROL	RESTRINGIDOS	CONTROL	RESTRINGIDOS
NUCLEOS /Gr. DE TEJIDO *	5.84×10^8	3.16×10^8	9.18×10^8	2.93×10^8
ARN/PROTEINAS	0.09	0.07	0.24	0.13
PROTEINAS/ADN	32.67	40.59	6.38	14.52

* 6.2 Pg de ADN son contenidos en una célula diploide de rata (23)

DISCUSION

Los resultados del presente trabajo en correlación con los datos reportados en estudios previos (2,11,23), muestran que animales desnutridos durante etapas tempranas de su desarrollo tienen una gran dificultad para ganar peso, esto es, muestran un retraso permanente en el crecimiento. Nuestros datos guardan una cierta diferencia con los reportados por Morgane y col. (17), quienes usaron un modelo de desnutrición en el cual los animales son alimentados con una dieta de 8% de proteína a base de caseína y demostraron que la desnutrición durante la gestación tiene poco o ningún efecto sobre el peso del cerebro al nacimiento.

Sin embargo es interesante saber que en el presente trabajo aparentemente no ocurren cambios en cuanto al peso del cerebro; mientras que en el peso del cuerpo y cerebelo se observa una disminución muy notable que es de 23% y 21% respectivamente en comparación con los controles.

Ahora bien al comparar la relación entre el peso cerebelar con el cerebro en animales restringidos este

se ve disminuido en un 3.5%; mientras que en los normales la disminución es de un 4.7%.

En las determinaciones de las mediciones morfológicas se encontró que el diámetro transversal tanto de cerebro como de cerebelo fué menor en los animales restringidos en comparación con los animales normales. Todo esto nos muestra que el sistema nervioso central se encuentra severamente afectado y no sólo en su morfología sino que también en su celularidad ya que la reducción de ácidos nucleicos es mayor que la obtenida por Zamenhof y col. (10) en un modelo similar de desnutrición quien mostro una gran pérdida de células neuronales. Considerando que la multiplicación de células gliales no ocurre significativamente antes del nacimiento de las ratas (4), esta disminución en el ADN nos refleja una reducción en el número de neuronas en los animales recién nacidos provenientes de madres restringidas.

Aunque no fueron observadas diferencias aparentes en el contenido de proteínas en el grupo de los animales restringidos en el presente trabajo. Las variaciones en el contenido de ADN y ARN así como en la relación ARN/proteínas y proteínas/ADN pueden representar algún

deficit en la actividad metabólica del sistema nervioso central en este grupo, lo cual necesita ser estudiado posteriormente enfocándose al metabolismo y sistemas de producción de energía.

Con el modelo de restricción proteica antes y durante la gestación. El cerebelo se vio más afectado que el cerebro en las camadas de ratas desnutridas a juzgar por los parametros medidos en este estudio.

Se sabe que el cerebelo en la rata completa su maduración postnatalmente (23,26), de esta manera se explica el daño preferencial de los elementos del tejido cerebelar en condiciones de restricción proteica, como de nuestro estudio produciendo retraso en el crecimiento intrauterino durante la segunda mitad de la gestación (13,27).

Tomando en cuenta que el perro y el cerdo son especies altriciales (18,28), se pueden esperar resultados similares a los obtenidos en ratas (17), por lo que este estudio resulta de gran interes ya que nos ocasiona una serie de limitantes en el desarrollo y finalidad de los animales mencionados.

CONCLUSIONES

El modelo de desnutrición utilizado en el presente estudio muestra una disminución significativa en el peso corporal de las camadas de animales restringidos, así como en la talla de cerebro y cerebelo, en el número de células neuronales y desarreglos en el metabolismo de células nerviosas.

Se concluye que los objetivos del presente estudio se cumplieron en su totalidad y se agrega que los datos recuperados son de gran utilidad para conocer como se afecta el desarrollo del sistema nervioso central ante una deficiencia de proteínas en la dieta, lo cual ocasiona retraso permanente en el crecimiento, además de que produce una baja significativa en el porcentaje de fertilidad hasta de un 50%.

REFERENCIAS

1. Angulo-Colmenares, A.G., Vaughan, D.W. and Hinds, J.W. Rehabilitation following early malnutrition in the rat: Body weight, brain size and cerebral cortex development. *Brain Res.* 169: 121-138 (1979)
2. Forbes, W.B., Tracy, C., Resnick, O. and Morgane, P.J. Effects of maternal dietary protein restriction on growth of the brain and body in the rat. *Brain Res. Bull.* 2: 131-135 (1977)
3. Stern, W.C., Miller, M., Forbes, W.B., Leahy, J.P., Morgane, J.P. and Resnick, O. Effects of protein malnutrition during development on protein synthesis in brain and peripheral tissues. *Brain Res. Bull.* 1: 27-31 (1976)
4. Clark, G.M., Zamenhof, S., Marthens, V.E., Grauel, L. and Kruger, L. The effect of prenatal malnutrition on dimensions of cerebral cortex. *Brain Res.* 54: 397-402 (1973)
5. Patel, A.J., Balaz, R. and Johnson, A.L. Effect of undernutrition on cell formation in the rat brain. *J. Neurochem.* 20: 1151-1165 (1973)

6. Robain, O. and Ponsot, G. Effects of undernutrition on glial maturation. Brain Res. 149: 379-297 (1978)
7. De Luca, B. Cioffi, A. and Bures, J. Cortical and caudate spreading depression as an indicator of neuronal changes induced by early malnutrition in rats. Activ. Nerv. Sup. (Praha) 19: 130-131 (1977)
8. Barnes, D. and Altman, J. Effects of two levels of gestational-lactational undernutrition on the postweaning growth of the rat cerebellum. Expl. Neurol. 38: 420-428 (1973)
9. Barnes, D. and Altman, J. Effects of different schedules of early undernutrition on the preweaning growth of the cerebellum. Exp. Neurol. 38: 406-419 (1973)
10. Dobbing, J. Hopewell, J.W. and Lynch, A. Vulnerability of developing brain: VII. Permanent deficit of neurons in cerebral and cerebellar cortex following early mild undernutrition. Expl. Neurol. 25: 534-540 (1971)
11. Wurtman, R.J. and Wurtman, J.J. Effects of protein-calorie malnutrition on biochemical aspects of brain development. In: Nutrition and the brain 2: 147-260 Raven Press, New York. (1977)

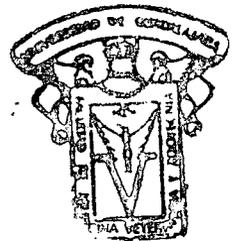
12. Griffin, W.S.T., Woodward, D.J. and Chanda, R. Malnutrition and brain development: Cerebellar weight, ADN, ARN, Protein and histological correlations. J. Neurochem. 28: 1269-1279 (1977)
13. Wallingford, J.C.; Shrader, R.E. and Zeman, J.F. Effect of maternal protein-calorie malnutrition on fetal rat cerebellar neurogenesis. J. Nutr. 110: 543-551 (1980)
14. West, C.D. and Kemper, T.C. The effect of a low protein diet on anatomical development of the rat brain. Brain Res. 107: 221- 237 (1976)
15. Del Angel, A.R.; Tapia-Arismendi, G. and Feria-Velasco, A. Effects of food restriction during lactation on posnatal development on rat cerebellum. Correlative biochemical and structural study. Nutr. Rep. Int. 30: 95-109 (1984)
16. Hillman, D.E.; Chen, S. Vulnerability of cerebellar development in malnutrition. II Intrinsic determination of total synaptic area on purkinje cells spines. Neuroscience 6: 1263-1275 (1981).

17. Morgane, P.J.; Miller, M.; Kemper, T.; Stern, W.; Forbes, W.; Hall, R.; Bronzino, J.; Kissane, J.; Hawrylewics, E. and Resnick, O. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neurosci. biobehav. Rev.* 2 137-230 (1978)
18. Zamenhof, S.; Marthens, V.E. and Margolis, F.L. ADN (cell number) and protein in neonatal brain: Alteration by maternal dietary protein restriction. *Science.* 160: 322-323 (1968).
19. Lee G .Luna (eds.). *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces.* Institute of Pathology. 4th. Edition. American Registry of Pathology: p; 70. (1969).
20. Burton, K. A Study of the conditions and mechanisms of the diphenilamina reaction for the colorimetric estimation of desoxyribonucleic acid. *Biochem. J.* 62: 315-323 (1956)
21. Webb, J.M. A sensitive method for the determination of ribonucleic acid in tissues and microorganisms. *J. Biol. Chem* 221: 635-649 (1956)
22. Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Faar, H. and Randall, R.J. Protein measurement With the folin phenol reagent.

- J. Biol. Chem. 193: 265-275 (1951)
23. Miale, J.L. and Sidman, R.L. An Autoradiographic Analysis of histogenesis in the mouse cerebellum. Exptl. Neurol. 4: 277-296 (1961)
24. Ya-Lun Chow. Analisis Estadistico. Sgda. Edición. Editorial Interamericana. (1977).
25. Winick, M and Noble, A. Quantitative Changes in DNA, RNA and proteins during prenatal and postnatal growth in the rat. Dev. Biol. 12 451-466 (1965)
26. Altman, J. Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. II Phases in the maturation of purkinje cells and the molecular layer. J. Comp. Neurol. 145: 399-464 (1972)
27. Tapia-Arizmendi, G. Efecto dael retardo en el crecimiento intrauterino sobre la maduraación de la corteza cerebelosa de rata. Estudio estructural. Tesis de Maestria en Ciencias Biomédicas (Biología Celular). Escuela dae Graduados Universidad de Guadalajara. Guadalajara Jal. (1982).
28. Sisson, S.; Grossman, J.D. Anatomia de los animales domesticos. 1: 209-210; 231-235. Salvat editores. quinta edición (1980)

FE DE ERRATAS

Pag.	Renglón	Debe decir
6	4	Cerebelo de
20	2	24% y 128%
30	14	del
30	15	Maduración
30	18	de



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS