

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



ESTUDIO HISTOLOGICO DE LA POBLACION CELULAR NEURONAL Y GLIAL DEL ENCEFALO DE RATA CON RETARDO EN CRECIMIENTO INTRAUTERINO.

T E S I S P R O F E S I O N A L

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
MARIA LUISA MENDOZA MAGAÑA

Asesor de Tesis:

M. EN C. JOAQUIN GARCIA ESTRADA
MVZ. RODOLFO JAVIER BARBA LOPEZ
GUADALAJARA, JALISCO, MAYO DE 1987

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESTUDIO HISTOLOGICO DE LA POBLACION CELULAR NEURONAL Y
GLIAL DEL ENCEFALO DE RATA CON RETARDO EN EL
CRECIMIENTO INTRAUTERINO

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

MARIA LUISA MENDOZA MAGANA

ASESORES:

M. EN C. JOAQUIN GARCIA ESTRADA

MVZ. RODOLFO JAVIER BARBA LOPEZ

GUADALAJARA, JALISCO. MAYO 1987

A Mis Padres
El mejor de mis
sentimientos, con todo
mi cariño y admiración.

Agradezco a mis Hermanos
por su apoyo y confianza
constante y desinteresada.

A mi Esposo
Por su comprensión
en los momentos difíciles
para El con todo mi amor.

Al M.V.Z. Rodolfo Javier Barba López.
y al M.V.Z. J. Jesus Castañeda Sandoval
Eterno agradecimiento que con su valiosa
amistad constante y desinteresada y
su insistencia en seguir mi
superación académica.

A mis Amigos
Gracias por su confianza
e inquietud en seguir adelante.

A mis Asesores
M. en C. Joaquín García Estrada.
M.V.Z. Rodolfo Javier Barba López.
Gracias por su orientación
durante el desarrollo de esta
Investigación.

A los Miembros del Jurado:
M.V.Z. Javier Rivera Hernández
M.V.Z. Ruben Loeza Elgueros.
M.V.Z. Ma. Consuelo Arana Flores.
M.V.Z. Rafael Escalante Martínez.
M.V.Z. Luis Roberto Bourguetts López.

A todas las personas
que con su experiencia
y conocimientos facilitaron
la realización de esta Tesis.

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN EL MODULO DE MORFOLOGIA
EXPERIMENTAL DEL DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION CIENTIFICA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE
GUADALAJARA.

C O N T E N I D O

	Página.
RESUMEN	
INTRODUCCION	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
HIPOTESIS	7
OBJETIVOS GENERALES Y PARTICULARES	8
MATERIAL Y METODOS	10
RESULTADOS	14
DISCUSION	27
CONCLUSIONES	34
BIBLIOGRAFIA	36

Nota: Parte del material contenido en el presente estudio fue admitido para publicación en el número 7 de la revista de divulgación científica " Tiempo de Ciencia " de la Universidad de Guadalajara.

RESUMEN.

La desnutrición es un importante problema de salud pública, por su naturaleza multifactorial resulta difícil de estudiar en humanos, entre sus principales consecuencias se encuentran trastornos del sistema nervioso de sujetos afectados durante el desarrollo, algunas patologías vasculares maternas provocan cambios semejantes ya que también disminuye la cantidad de aminoácidos, glucosa, oxígeno y otros elementos presentes en la sangre materna. Se estudiaron dos modelos experimentales que producen desnutrición fetal materna; restricción proteica-calórica y ligadura de las arterias uterinas durante la preñez, se analizaron el peso corporal, peso cerebral, perímetro cefálico, la longitud craneo-caudal y la citoarquitectura de la corteza cerebral y cerebelo de crías al nacimiento y a los 21 días de edad después de someter camadas de 4 animales a desnutrición continua o rehabilitación.

Las crías de madres ligadas tuvieron al nacer peso y tamaño significativamente menores al normal. En los productos de madres desnutridas el perímetro cefálico fué estadísticamente menor y el peso cerebral fue normal. A los 21 días de edad las ratas ligadas-desnutridas revelaron alteraciones en el peso cerebral, corporal y el perímetro cefálico. En los animales rehabilitados hubo recuperación en los cuatro parámetros estudiados.

En la progenie desnutrida-desnutrida todos los parámetros fueron significativamente inferiores al normal, mientras que en los productos desnutridos-rehabilitados no se encontraron diferencias.

Se distinguieron anomalías estructurales en cerebelo neonatal de ambos grupos. En corteza cerebral de ratas con deprivación prenatal y postnatal se observó una reducción del número celular, signos de inmadurez y cambios degenerativos neuronales aislados, las alteraciones fueron más notables en cerebelo. Los animales de la misma edad rehabilitados manifestaron las mismas alteraciones solo que menos severas.

Los efectos provocados por los dos modelos estudiados fueron muy semejantes, el de ligadura fué más severo debido a que además de la restricción de nutrientes se produjo hipoxia fetal. Los resultados obtenidos permiten señalar la importancia de que los sujetos en desarrollo tengan una buena nutrición durante la gestación y la vida postnatal inmediata para mantener la integridad del sistema nervioso.

INTRODUCCION

En la actualidad la desnutrición es un problema creciente particularmente importante en países en desarrollo, debido a la gran cantidad de variables de tipo alimentario, socioeconómico y culturales que intervienen, resulta difícil de analizar, por lo que mediante trabajos de experimentación en animales es posible estudiar las anomalías que podrían presentarse en humanos afectados durante su crecimiento prenatal y/o postnatal inmediato, así como la implementación de medidas orientadas a la recuperación de los sujetos.

La desnutrición alimentaria calórica-proteica y la isquemia uterina durante la gestación provocan una disminución en la cantidad de nutrientes que recibe el feto, por lo que se afecta el desarrollo prenatal, entre los órganos que resultan más afectados se encuentran los del sistema nervioso central (SNC) (1-4).

Las alteraciones que se producen durante la vida intrauterina se manifiestan posteriormente como un deterioro en la capacidad de aprendizaje y conducta anormal de los sujetos afectados durante su desarrollo (5,6).

Hasta el momento se han realizado una gran cantidad de estudios experimentales que han utilizado diferentes modelos de restricción alimenticia, tales como: 1) aumento en el número de crías en la camada. 2) separación de las madres durante la lactación por periodos definidos de tiempos, 3) restricción dietética aplicada a la madre en gestación y lactación, ya sea en la ingestión del volumen total de alimento o a un ingrediente

especifico presente en la dieta (7), ademas se han efectuado experimentos bajo condiciones de desnutrición generacional (8-10) que consisten en continuar la desnutrición en productos de madres nacidas de animales desnutridos y asi sucesivamente hasta alcanzar una desnutrición crónica. Asimismo existen algunos procedimientos quirúrgicos que reducen el volúmen del flujo sanguíneo uterino mediante ligadura de las arterias uterinas, como el modelo de Wigglesworth, (2,11).

Los efectos de la restricción de nutrientes se han analizado mediante estudios bioquímicos y estructurales en los productos afectados, se ha reportado una menor cantidad del contenido del ADN y ARN cerebrales (11,13), esto sugiere una menor celularidad y disminución de la síntesis de proteínas. Generalmente las lesiones que resultan del SNC bajo condiciones adversas para el desarrollo fetal son de naturaleza irreversible aún cuando se induce la rehabilitación de los productos (14) sin embargo se pueden alcanzar niveles de recuperación cercanos a la normalidad cuando se asocian diferentes factores favorables como: tipo de alimentación, medio ambiente y sociabilización, entre los principales y dependiendo ademas del momento del desarrollo fetal o de la vida postnatal en que se producen las alteraciones, severidad y duración de la restricción (3,15).

Bajo condiciones extremas de mala alimentación ya sea por desnutrición generacional continuada o debido a interrupción severa del flujo sanguíneo uterino se han reportado abortos, productos nacidos muertos o crías de bajo peso con una notable disminución del peso corporal y cerebral respecto a los animales control (16,17) así como infertilidad de la progenie de madres

desnutridas, esto se hace evidente por la falta de apertura del orificio vaginal durante el estro (17).

Cuando suceden patologías intrínsecas en el sistema vascular materno se reduce la cantidad de nutrientes, oxígeno glucosa y aminoácidos sanguíneos, además se producen efectos tóxicos secundarios por la acumulación de los productos terminales del catabolismo fetal como CO₂, urea y otros (18,19). Entre las alteraciones vasculares materno-fetales se encuentran; espasmos arteriales, compresión sobre las paredes externas arteriales, y obstrucciones provocadas por trombos y embolos que reducen el volumen del flujo (20). Las consecuencias resultantes en los productos son comparables a las que se observan en casos de desnutrición, ocurren cambios degenerativos en el hígado y músculo esquelético fetales, asimismo el SNC resulta seriamente afectado (17,21,22).

Tanto en modelos de desnutrición por restricción calórica-proteica como en el modelo de Wigglesworth se identifican cambios bioquímicos comunes; aumento en el contenido del colesterol cerebral y disminución de la concentración de galactolípidos y ácidos grasos sanguíneos (2), por lo que resulta una mielogénesis incompleta durante las etapas de mielinización del SNC (23,25).

Asimismo, bajo condiciones extremas de restricción de nutrientes en etapas primarias del desarrollo embrionario se presentan numerosas reabsorciones durante el primer tercio de la gestación (26), abortos en estadios más avanzados (25), y bajo índice del número de animales nacidos, hasta de un 50% (21). Por otra parte, también sucede retardo en la maduración de diferentes

organos de los productos nacidos vivos que sobreviven (28).

Existen reportes acerca de que se pueden alcanzar un 80% en la recuperación física corporal de sujetos afectados durante el desarrollo, en relación con su peso cerebral y de la medula espinal cuando se establece un proceso de rehabilitación postnatal (14,29). Sin embargo persiste el retardo en la maduración de las diferentes estirpes neuronales, así como disminución en su densidad y diferenciación, esto trae como consecuencia más notable un retardo mental variable que puede pasar desapercibido en algunos casos (23,30).

Entre los trastornos menos manifiestos se encuentran las alteraciones locomotoras, disminución de la velocidad de respuesta ante estímulos e hiperexcitabilidad estimuladora así como la presencia de movimientos estereotipados (17,30,31). En trabajos experimentales sobre capacidad de aprendizaje se ha encontrado un alto nivel de distracción en ratas desnutridas durante la vida prenatal o el desarrollo postnatal inmediato, frustración y otras anomalías conductuales que impiden el aprendizaje normal (15,17,27).

Los hallazgos que resultan de animales experimentales permiten inferir las posibles consecuencias que se presentan en humanos, aunque estas son de naturaleza muy diferente por la gran cantidad de variables que convierten a la desnutrición en un fenómeno multifactorial, entre las principales alteraciones se encuentran; la incapacidad para alcanzar un desarrollo físico e intelectual normales, además de trastornos en la personalidad (5,31).

En estudios histológicos sobre cerebro y cerebelo de sujetos desnutridos o sometidos a restricción del flujo sanguíneo uterino

durante el último tercio de la gestación se ha visto que el cerebro resulta afectado principalmente en su parte anterior, neocorteza cerebral y algunas regiones del hipocampo (25,32), las células nerviosas y población glial revelaron un menor índice mitótico y diferenciación incompleta (33,34). En el cerebelo se afecta principalmente el tiempo normal de migración de las células presentes en la capa granular externa, así como la población de células de Purkinje (35,37), en las células gliales se ha encontrado una proliferación disminuida del número de astrocitos, así como inclusiones lipídicas citoplasmáticas en estos (16,30).

Cuando el fenómeno de restricción de aminoácidos, glucosa, oxígeno y otros elementos presentes en la sangre materna se continúa además durante la vida postnatal inmediata, los daños que se producen en tejido nervioso son comúnmente de naturaleza irreversible (6,16,26). Las alteraciones estructurales del tejido nervioso pueden sufrir modificaciones adaptativas que permiten el restablecimiento parcial de la funcionalidad perdida mediante la especialización neuronal que consiste principalmente en el aumento del número de terminales sinápticas con lo que se establecen vías adicionales de comunicación interneuronal (7,25,38).

Por todo lo anterior expuesto y debido a que continúa en aumento el problema alimentario de países en desarrollo además de la presentación frecuente de trastornos vasculares de índole diverso que tienen en común la disminución en la velocidad y/o volumen del flujo sanguíneo uterino en hembras gestantes, se decidió realizar el presente trabajo.

P L A N T E A M I E N T O D E L P R O B L E M A .

En la mayoría de los mamíferos el desarrollo fetal más acelerado sucede durante el último tercio de la gestación por esta razón se requiere de un aporte adecuado de nutrientes, cuando esto no ocurre por una mala nutrición o debido a lesiones reversibles o permanentes en los productos, estas alteraciones se hacen evidentes mediante estudios anatómicos, bioquímicos o histológicos, especialmente en el Sistema Nervioso ya que madura durante la etapa perinatal.

Como consecuencia de la restricción del aporte sanguíneo o la disminución en la cantidad de nutrientes, los animales nacen con un retardo en el crecimiento intrauterino evidente por un peso inferior al normal y una mortalidad mayor, los que sobreviven sufren retardo permanente del desarrollo cuando la desnutrición continúa, por lo anterior es necesario conocer las anomalías que suceden en la citoarquitectura del encéfalo de ratas a diferentes tipos de desnutrición experimental pre y postnatal a fin de establecer la respuesta de estos tejidos y relacionarla con otros estudios que traten de precisar las causas de morbilidad elevada de recién nacidos en explotaciones.

H I P O T E S I S

Si la desnutrición fetal se produce por disminución en la cantidad normal de nutrientes a través de la sangre materna, luego entonces cuando se induce isquemia experimental bilateral en el último tercio de la gestación, se producen alteraciones comparables en la organización celular del encéfalo de los productos.

OBJETIVOS GENERALES

Estudiar las alteraciones que se producen en la citoarquitectura de la corteza cerebral y cerebelar de ratas desnutridas recién nacidas, así como las modificaciones por el efecto de rehabilitación alimenticia durante el desarrollo postnatal. Para lo anterior se utilizarán dos modelos; restricción alimenticia calórica-proteica y el modelo de ligadura de Wigglesworth.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Se analizarán parámetros morfométricos, así como cortes de tejido nervioso mediante la aplicación de técnicas histoquímicas específicas de microscopía de luz, pertenecientes a los animales control y experimentales.

2. Con los resultados obtenidos se efectuarán las siguientes estudios:

a) Análisis descriptivo de la población celular neuronal y glial en el SNC de animales con desnutrición alimenticia y por efecto de ligadura de las arterias uterinas al término de la gestación y valoración de los efectos de rehabilitación nutricional durante el desarrollo en base a los parámetros descritos.

b) Mediante el análisis de los datos obtenidos se pretende establecer el tipo y severidad de alteraciones en las principales estructuras del cerebro y cerebelo, así como las áreas particula-

rmente afectadas, para de esta manera en base al conocimiento de la actividad funcional específica y la capacidad de rehabilitación del tejido nervioso se puedan disminuir los efectos de la desnutrición mediante la implementación de medidas de prevención o rehabilitación. además se evaluará si el retardo en el crecimiento intrauterino provocado por disminución del volumen de alimento a las madres o la isquemia uterina bilateral se manifiesta después por alteraciones comparables en el desarrollo corporal o en la organización celular del encéfalo de los productos.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

Para el presente trabajo se utilizaron 14 ratas Sprague-Dawley adultas del segundo parto con pesos entre 250-300 g, alimentadas con Chow-purina y mantenidas bajo condiciones de bioterio con ciclos de días artificiales de 12 h luz y 12 h oscuridad. De cada uno de los animales se determinó la etapa de estro mediante citología exfoliativa, (38). Después de mantener 3 ratas con un macho durante una noche se estableció el día 1 de la gestación por la presencia de espermatozoides en el moco vaginal. Características de los grupos estudiados.- El grupo control estuvo formado por 4 ratas que se mantuvieron con alimentación normal "ad libitum" con un 23% de proteína y 4,250 cal/kg de alimento durante todo el experimento. El grupo experimental estuvo compuesto por 10 ratas, 4 de estas se anestesiaron el día 15 de la gestación mediante inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico en dosis de 10 mg/100 g de peso, con una aguja corta del No.25 y un volumen final de 0.8 ml, después de ayuno de 12 h y se practicó laparotomía media abdominal bajo condiciones asépticas para ligar ambas arterias uterinas según la técnica de Wigglesworth, (11).

Las 6 ratas restantes se alimentaron desde el principio de la preñez con el 50% del contenido proteico normal del alimento, por lo que se redujo a un 11.5% el contenido de proteína y a 3,300 cal/kg de alimento, además esta dieta se suplementó con 8 a 10 g. de fibra para completar el volumen normal de consumo por día para una rata adulta (14 a 15 g).

Selección de las crías al nacimiento para estudio.- Después del

parto resultaron 30 productos de las ratas control, 28 crias del grupo de hembras sometidas a ligadura y de 50 de las hembras desnutridas, de todas se determinaron el peso corporal y del encefalo (sin lóbulos olfatorios), en una balanza analítica "Bosch" así como el tamaño y perimetro cefálico; posteriormente se seleccionaron al azar de 3 a 4 crias por madre en todos los grupos, mismas que se perfundieron para estudio. Con el resto de la progenie se ajustò a 4 el número de animales por camada, para el resto del experimento.

Durante los primeros 21 días de la etapa de lactación las crias provenientes de ratas ligadas o desnutridas se sometieron a dos condiciones nutricionales distintas. La mitad de las ratas recién nacidas de ambos grupos se amamantaron por madres que recibieron alimentación normal, y la otra mitad por ratas con la dieta experimental hipocalòrica e hipoproteica hasta el final del estudio, que concluyò cuando todos los animales control y experimentales alcanzaron 21 días de edad y se registraron nuevamente los parametros descritos antes de iniciar la perfusión.

Preparación de muestras para estudio histològico.- Los productos recién nacidos y de 21 días de edad de los grupos control y experimentales se anestesiaron con eter anhidro en una cámara cerrada, inmediatamente después se practicò toracotomia para iniciar la perfusión intracardiaca mediante la introducción de una aguja corta No. 23 en el ventriculo izquierdo y sección de la auricula derecha, se hizo pasar una solución inicial de Ringer-Krebs con 0.1% de procaina y 0.06 % de heparina, con un pH de 7.3 y 283 mosm/l a temperatura de 37°C durante 3 a 4 min y bajo

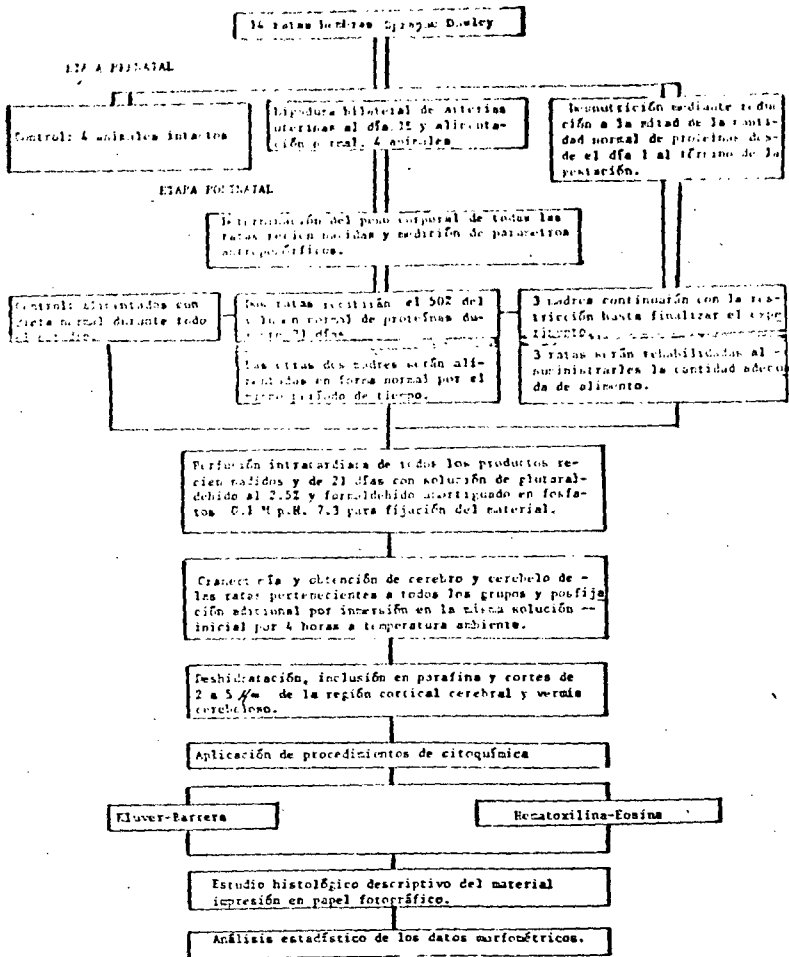
una presión de 130 cm de agua (99.58 mm de Hg), seguida de una solución fijadora de formaldehído al 1% y glutaraldehído al 2.5% disuelto en amortiguador de fosfatos 0.1 M con un pH de 7.3 y 365 mosm/l para crías recién nacidas y de 650 mosm/l para ratas de 21 días, durante 7 a 8 min.

Después de la perfusión se practicó craneotomía, el encéfalo completo se fijó adicionalmente por inmersión en la misma solución fijadora durante 4 h a temperatura ambiente para luego lavarse en tres cambios de 15 min cada uno con amortiguador de fosfatos 0.1 M, enseguida se hizo un corte medio-sagital en todos los encéfalos para separar los dos hemisferios y procesarlos por separado mediante deshidratación inicial en series crecientes de etanol y mezclas de etanol-xilol e inclusión en parafina, (39). De ambos hemisferios se obtuvieron indistintamente cortes de 2 a 5 μ m de espesor con un microtomo American-Optical SL-20, y se aplicaron las técnicas de tinción de Kluver-Barrera (40), especial para tejido nervioso y hematoxilina-eosina (41).

Las preparaciones se estudiaron en un fotomicroscopio Zeiss Femi III y con película Plus-X-Pan ASA 125 de 35 mm se obtuvieron negativos de las áreas frontales, parital y occipital de la corteza cerebral, así como de las diferentes folias del vermis cerebelar. El análisis de los tejidos de realizó sobre rotomicrografías a diferentes ampliaciones, se estudió la apariencia particular de las diferentes estirpes celulares presentes en ambos órganos, así como su citoarquitectura, además de las modificaciones que normalmente suceden durante la ontogenia del sistema nervioso en la vida postnatal inmediata, especialmente

en cerebello.

Para establecer los valores de significancia entre los resultados obtenidos de los parámetros morfométricos de todos los animales estudiados al nacimiento y a los 21 días de edad se utilizó la prueba de Mann-Whitney ,(42).



R E S U L T A D O S

Al termino de la gestación solamente el grupo de madres desnutridas tuvo trabajo de parto difícil y muerte de un 18% de los productos menos desarrollados (Cuadro 1).

El promedio de crias por madre control fue de 7.5, de 7.0 en el grupo de hembras ligadas y de 8.3 en el de desnutridas, en estas últimas por la mortalidad neonatal el porcentaje se redujo a 7.0.

RESULTADOS DEL ESTUDIOS MORFOMETRICOS.

Animales recién nacidos.-

La progenie de madres ligadas reveló valores significativamente menores a los normales en el tamaño y peso corporal. El perímetro cefálico y peso del cerebro no mostraron diferencias significativas con el grupo control (Cuadros 1-4).

Las crias de madres desnutridas desde el inicio de la preñez también tuvieron un tamaño y peso corporal menores, además el perímetro cefálico fué significativamente menor en estos animales ($P < 0.01$), sin embargo el peso cerebral no sufrió alteraciones (Cuadros 1-4).

Animales de 21 días de edad.-

El grupo de ratas Ligadas-Desnutridas resultó afectado en el peso corporal, perímetro cefálico y peso cerebral, solo se observó una recuperación parcial en el tamaño, que en algunos de estos animales fué comparable al control, mientras que otros se encontraron de talla muy reducida, por está razón no se determinó significancia estadística (Cuadros 1-4).

Las ratas jóvenes del grupo Ligado-Rehabilitado presentarán

recuperación en los cuatro parámetros estudiados (Cuadros 1-4).

La progenie de animales Desnutridos-Desnutridos mostró anomalías en el peso corporal, talla, peso cerebral y tamaño del cráneo, todos estos valores fueron significativamente inferiores en los normales (Cuadros 1-4).

En los productos del grupo Desnutrido-Rehabilitado no se encontraron diferencias significativas con respecto al control en todos los parámetros descritos ($P > 0.01$), por lo que se alcanzó una notable recuperación, lo que hace evidente la mayor severidad provocada por el fenómeno de isquemia, resultante de la ligadura en el grupo antes descrito a la misma edad (Cuadros 1-4).

ESTUDIO HISTOLÓGICO.

Animales recién nacidos.-

No se distinguieron alteraciones estructurales importantes entre las diferentes regiones de la corteza cerebral examinada de los grupos control y experimentales (Figs. 1-3). En el cerebelo de estos últimos se observaron anomalías en las células de Purkinje y granulares, así como en la densidad celular en general. Estos cambios fueron más evidentes en tejidos de animales provenientes del grupo de hembras ligadas (Figs. 4-9).

Animales de 21 días de edad.-

Progenie de madres desnutridas durante la lactancia.- En la corteza cerebral de crías de madres Ligadas-Desnutridas se identificó un retraso marcado en la maduración celular manifiesto por la ausencia de laminación cortical, reducción aparente del número normal de células y aparición de neuronas picnóticas (Figs. 14, 15).

En tejidos de crías de madres Desnutridas-Desnutridas se observaron hallazgos semejantes a los descritos, excepto por la ausencia de figuras picnóticas, sin embargo hubo alteración en neuropilo y células gliales, los cambios se hicieron más evidentes cuando se compararon estos tejidos con los de los controles (Figs. 13,16).

En preparaciones de cerebelo de animales Desnutridos-Desnutridos se encontró persistencia incompleta de células granulares en la banda granular externa, y numerosas células en migración a través de la capa molecular, algunas células de Purkinje aparecieron picnóticas, con basofilia elevada y alteraciones morfológicas, y en algunos casos en lisis completa, ya que solamente se observaron espacios vacíos, las demás estirpes presentaron poca diferenciación (Fig. 20).

En crías de hembras Ligadas-Desnutridas se observó lisis de numerosas células de Purkinje y mayor severidad en las alteraciones anteriormente descritas (Figs. 23,25).

Progenie rehabilitada durante la lactancia.- En la región frontal, parietal y occipital de la corteza cerebral de crías de madres Ligadas-Rehabilitadas se encontraron algunas células nerviosas con picnosis, basofilia marcada y necrosis en casos aislados, así como desarreglo de la organización estratificada de las principales estirpes (Fig. 15).

Los animales de madres desnutridas-rehabilitadas mostraron signos de retraso en la migración celular, evidentes por la acumulación neuronal en las capas corticales superficiales y la falta de definición en la morfología especial de cada estirpe, así como células gliales en número aparentemente mayor (Figs. 12,17).

Los controles no revelaron alteraciones (Figs. 10,11).

Los resultados anteriores demuestran la persistencia de anomalías estructurales en algunas regiones corticales de animales experimentales rehabilitados comparables a las que aparecieron en los no rehabilitados, aunque en algunas áreas de los primeros las células nerviosas tuvieron un aspecto semejante al de los controles. Las alteraciones en la ontogenia cerebelar fueron las más notables y se hicieron evidentes cuando se analizó la organización celular general de los tejidos.

En cerebelo de los controles de 21 días no se observó la capa granular externa, ya que esta desaparece entre los 18 y 20 días de edad y las células de Purkinje aparecieron bien alineadas en una monocapa (Fig. 19).

En cortes de cerebelo de la prole Desnutrida-Rehabilitada se encontraron numerosas células granulares migratorias en todo el espesor de la capa molecular, lisis de células de Purkinje y neuropilo de aspecto compacto, sin que se observara persistencia de una banda completa de células granulares (Fig. 21). En la región más externa de la capa molecular de crías de madres Ligadas-Rehabilitadas se observó persistencia de una línea incompleta de células en migración, desarreglo de células de Purkinje y en algunos casos lisis (Figs. 22,24).

Las alteraciones del desarrollo del encéfalo de animales experimentales solamente fueron evidentes en cerebelo al momento del nacimiento, a los 21 días de edad se presentaron sobre todo signos de inmadurez en corteza cerebral de los animales Desnutridos-Desnutridos y con mayor severidad en tejidos de crías

Ligadas-Desnutridas. Las alteraciones fueron muy semejantes entre sí. A su vez las anomalías identificadas entre los tejidos de crías rehabilitadas fueron también muy parecidas, independientemente del modelo de restricción prenatal utilizado y de menor severidad que las anteriores.

El mismo fenómeno se repitió cuando se analizaron tejidos de cerebelo de todos los grupos experimentales, en este las células de Purkinje resultaron ser las más afectadas. Los sujetos rehabilitados revelaron una desaparición casi completa de las células granulares externas, contrariamente a lo que se observó en todos los productos de madres desnutridas durante la lactancia, en los que persistió esta banda.

Fig. 1. Fotomicrografia que muestra la región occipito-parietal de corteza cerebral de animales recién nacidos control. Se distingue claramente una mayor densidad de células de aspecto granular en los estratos superiores (*) inmediatamente por debajo de la capa molecular se aprecian células de forma diversa, el neuropilo muestra un aspecto denso (*). Kluver-Barrera X 120.

Fig. 2. Se muestra una área semejante a la anterior correspondiente a crías recién nacidas de madres desnutridas durante el periodo gestacional, al igual que en los animales control se observa una mayor densidad en la región superior de corteza cerebral (*), tampoco puede apreciarse una clara diferenciación celular en los estratos intermedios e inferiores (←) K-B X 150.

Fig. 3. Fotomicrografia que muestra la región occipito-parietal de crías recién nacidas cuyas madres fueron sometidas a ligadura de las arterias uterinas en el segundo tercio de la gestación, a diferencia de las imágenes anteriores se observa mayores acúmulos celulares en algunas zonas (●), en el resto de los estratos corticales no se distinguen diferencias importantes con el resto de las imágenes antes descritas . K-B X 90.

Fig. 4. Se muestran unas folias cerebelares de animales control recién nacidos, se distingue claramente una banda densa de células granulares en el límite exterior de la capa molecular, misma que todavía no se define (□), en las laminas inferiores se aprecian indicios de organización de las principales estirpes celulares, entre estas las células de Purkinje (●) asimismo se distingue numerosos espacios vasculares (○). K-B X 225.

Fig. 5. Fotomicrografia de cerebelo perteneciente animales recién nacidos que fueron desnutridos durante la vida prenatal, se observa menor densidad del parênquima, así como un desarreglo en la distribución de células en la región superior de la folias, particularmente a nivel de la línea de células de Purkinje (●). Se distingue también la capa granular externa que se observó en los animales control (□). K-B X 350.

Fig. 6. Se presentan folias del vermis cerebelar de crías recién nacidas de madres sometidas a ligadura uterina al día 15 de la gestación, se aprecia la capa granular externa con un espesor irregular (□), asimismo, en las zonas inferiores se nota una distribución irregular de las células, así como una aparente menor densidad numérica en todo el tejido, el neuropilo aparece de aspecto esponjoso (◀). K-B X 205.

Fig. 7. Fotomicrografia de mediana amplificación que muestra la región más externa del cerebelo de animales recién nacidos control en la que se distingue claramente la banda de células granulares en la parte superior (□), seguida de células de Purkinje sin alineación (●), el espacio correspondiente a la capa molecular es casi nulo. K-B X 1030.

Fig. 8. Región correspondiente a un pliegue cerebelar de la progeñe de ratas ligadas, se distingue la banda de células granulares con límites irregulares (□), difícilmente pueden distinguirse las diferentes estirpes, ya que las células de Purkinje aparecen poco diferenciadas (●). K-B X 640.

Fig. 9. Se muestra la región externa de una folia del vermis

cerebelar de crías recién nacidas de madres desnutridas durante la gestación, se aprecia claramente una estrecha relación entre las células granulares de la lámina más externa y las células de Purkinje, algunas neuronas se encuentran en fase de migración (

●) K-B X 950.

Fig. 10. Fotomicrografía a mediana amplificación de las láminas superiores e intermedias de la región occipito-parietal de corteza cerebral de animales control a los 21 días de edad, se observa en la parte superior una clara organización celular (*), así como algunos núcleos de células gliales distribuidos en forma irregular a través del neuropilo (↑). En la quinta capa se distinguen proyecciones dendríticas de células nerviosas piramidales que se proyectan en forma ascendente hacia la región pial glial (◀).

K-B X 240.

Fig. 11. Se muestra un corte de corteza cerebral frontal perteneciente a un animal control, de la misma edad que el anterior, se observa en las laminas intermedias e inferiores células nerviosas de formas diversas (←) y algunos núcleos de células gliales densamente teñidos (↑), el resto del tejido muestra aspecto compacto característico.

Hematoxilina-Eosina X 190.

Fig. 12. Estratos superiores e intermedios de corteza cerebral, parietal de animales de 21 días de edad que fueron desnutridos-rehabilitados se aprecia una mayor densidad celular en la región superior (*) así como en el resto de las capas, la mayoría de las células nerviosas revelan un núcleo esférico prominente (*), se distinguen espacios vasculares a través del

parênquima cerebral (○), en general las células revelan poca diferenciación en su aspecto y morfología particular. K-B X 290.

Fig. 13. Fotomicrografía de baja amplificación perteneciente a un corte de corteza cerebral frontal de un animal de 21 días de edad desnutrido-desnutrido se observa un acúmulo de neuronas de forma granular por debajo de la cpa molecular (*), así como una menor densidad numérica en el resto del tejido. No se diferencian las distintas estirpes celulares, además las células aparecen sin ninguna organización a nivel de los estratos intermedios. (←)
K-B X 225.

Fig. 14. Corte que muestra la capa molecular y las láminas superiores e intermedias de un segmento de corteza cerebral frontal de ratas de 21 días de edad provenientes de madres ligadas-desnutridas se observan límites indefinidos en la parte superior (*), así como una menor población celular en todo el tejido, las células nerviosas aparecieron con un desarreglo en su disposición lineal normal y muestran poca diferenciación entre los diferentes niveles (←). H-E X 225.

Fig. 15. Corteza cerebral de un animal ligado-rehabilitado de 21 días de edad la capa molecular aparece con límites imprecisos (*), existe además una pobre diferenciación entre los distintos tipos de células que a esta edad ya definen los estratos corticales, tampoco se identifican indicios de laminación tanto a nivel medio como inferior (↔), algunos espacios amplios del parênquima cerebral están desprovistos de células nerviosas (*). H-E X 250.

Fig. 16. A mayor amplificación se muestra un grupo de neuronas de animales control a nivel de la capa de células multiformes con proyecciones somáticas orientadas en varias direcciones (◀), el soma aparece prominente y en algunos casos se puede identificar el nucleolo (*), se distinguen también claramente núcleos de células gliales (←), el neuropilo aparece denso, el aspecto general corresponde a la citoarquitectura de corteza cerebral de animales de 21 días. K-B X 880.

Fig. 17. Fotomicrografía a mediana amplificación de ratas de 21 días de edad de madres desnutridas-rehabilitadas, las neuronas revelan somas de apariencia normal (◀) al igual que los núcleos de células gliales (←), en el neuropilo se distinguen abundantes espacios vasculares. K-B X 920.

Fig. 18. Se muestran algunas neuronas de forma piramidal con proyecciones dendríticas, (») en un corte proveniente de corteza cerebral de ratas de 21 días ligadas-desnutridas. En su aspecto individual estas células mantienen una apariencia normal, sin embargo a través del tejido se aprecia un desarreglo de la distribución, el neuropilo muestra también un aspecto normal (*). K-B X 920.

Fig. 19. Corte de la región de confluencia de diferentes folias en el vermis de ratas normales de 21 días de edad, puede apreciarse la completa desaparición de la capa granular externa (□) la capa molecular muestra límites bien definidos y revela algunos núcleos celulares, se ha establecido claramente la línea de células de Purkinje (●) así como la capa granular interna que tiene como límites inferiores la sustancia blanca (★). H-E

X 220.

Fig. 20. Fotomicrografía correspondiente a la parte profunda de una folia del vermis de ratas desnutridas-desnutridas. Se observa la presencia de células de aspecto granular en el límite superior de la capa molecular (□), así como escasas células en la fase de migración (☆), algunas células de Purkinje aparecen picnóticas (●) y en general presentan una distribución no homogénea. K-B X 190.

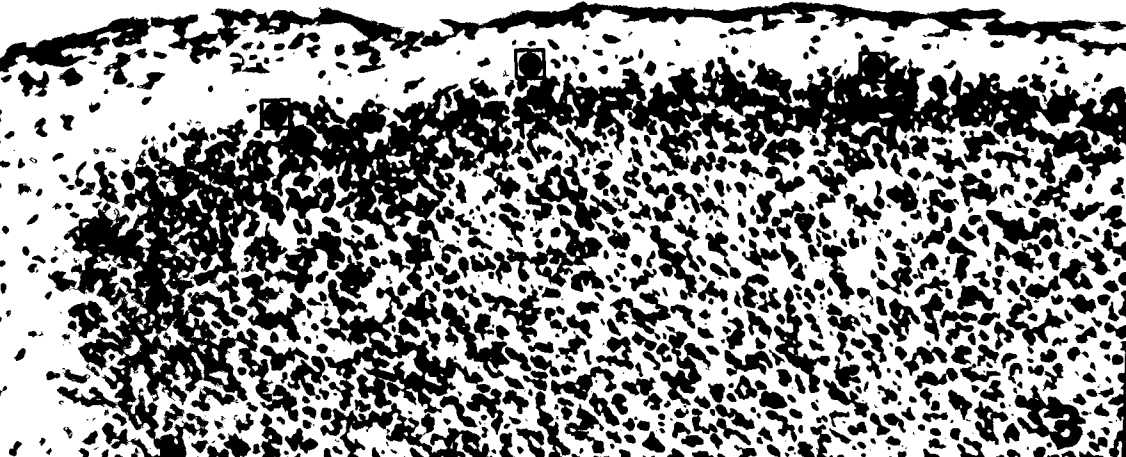
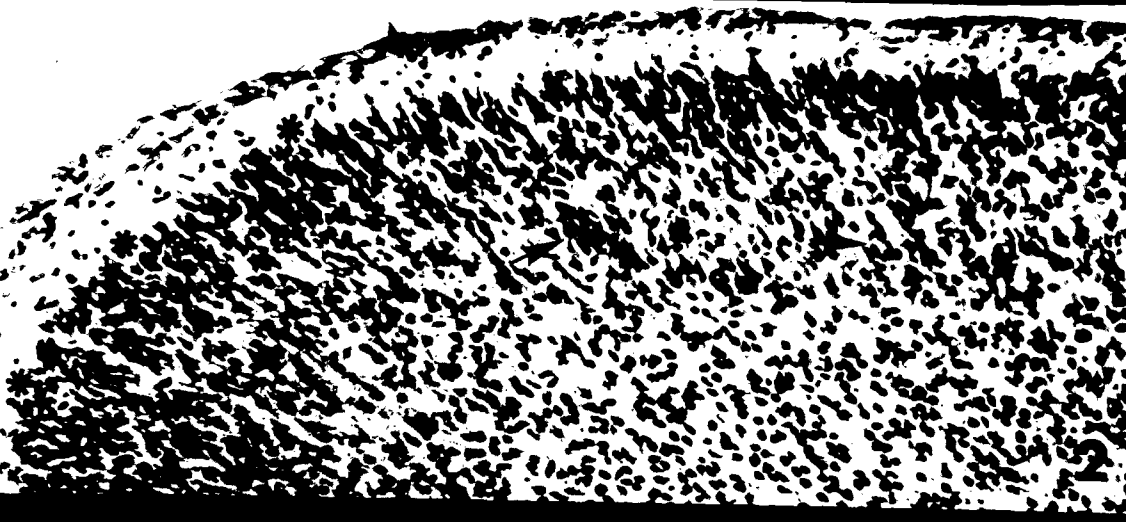
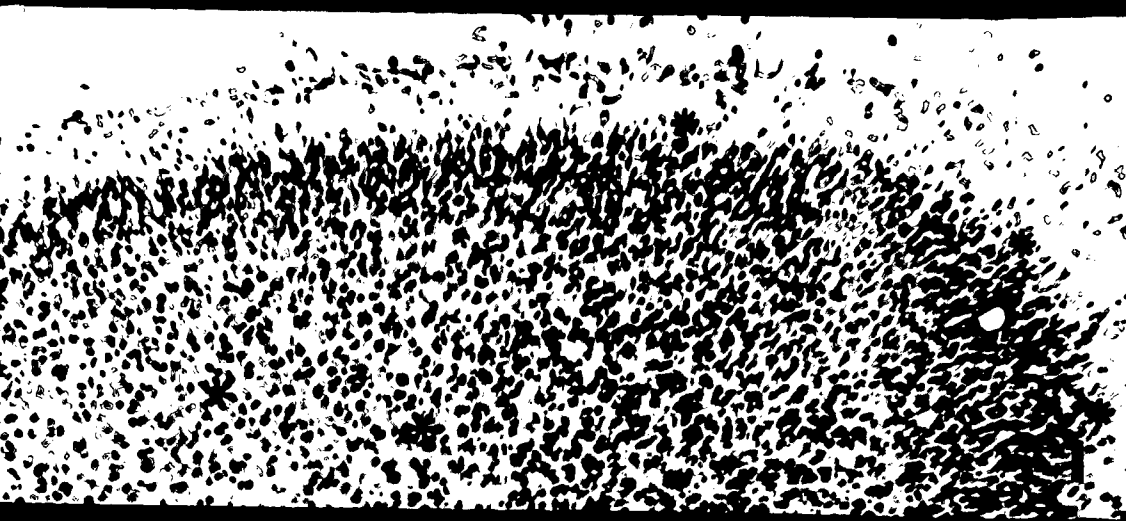
Fig. 21. Se muestra un corte de cerebelo de rata de 21 días de edad perteneciente al grupo desnutrido-rehabilitado, en la capa molecular pueden observarse algunas células migratorias (☆), así como alteraciones en la morfología normal de células de Purkinje (●), el resto del tejido mantiene un aspecto normal. H-E X 190.

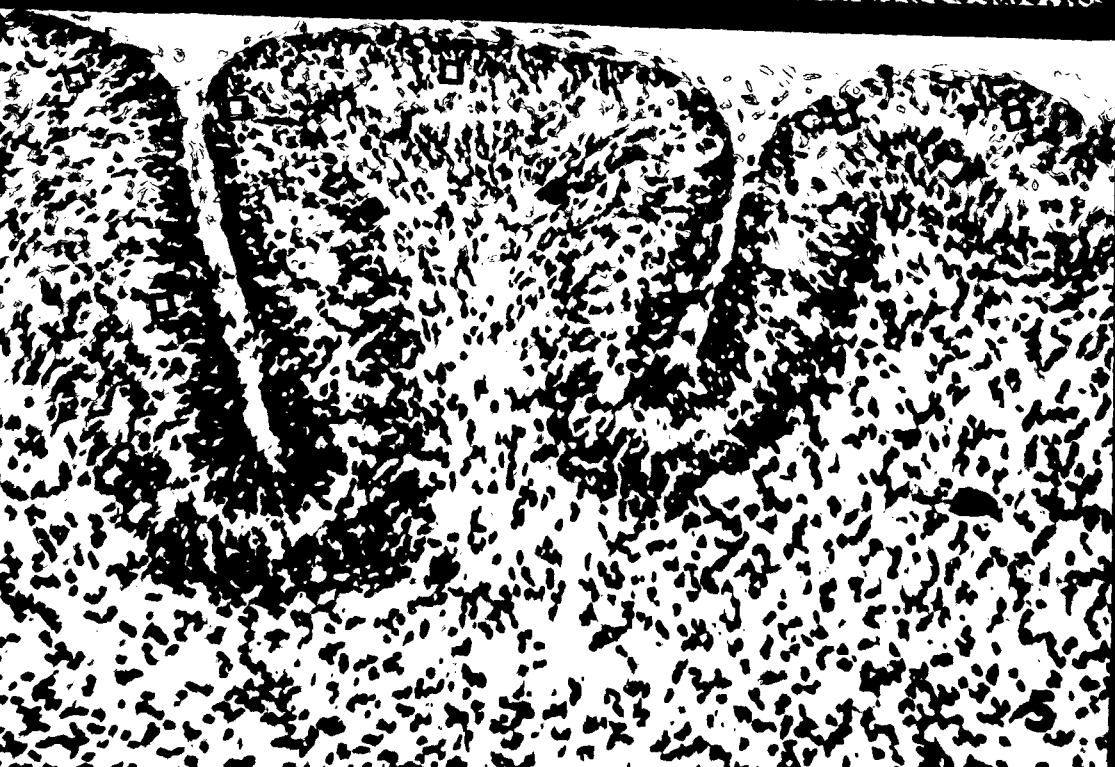
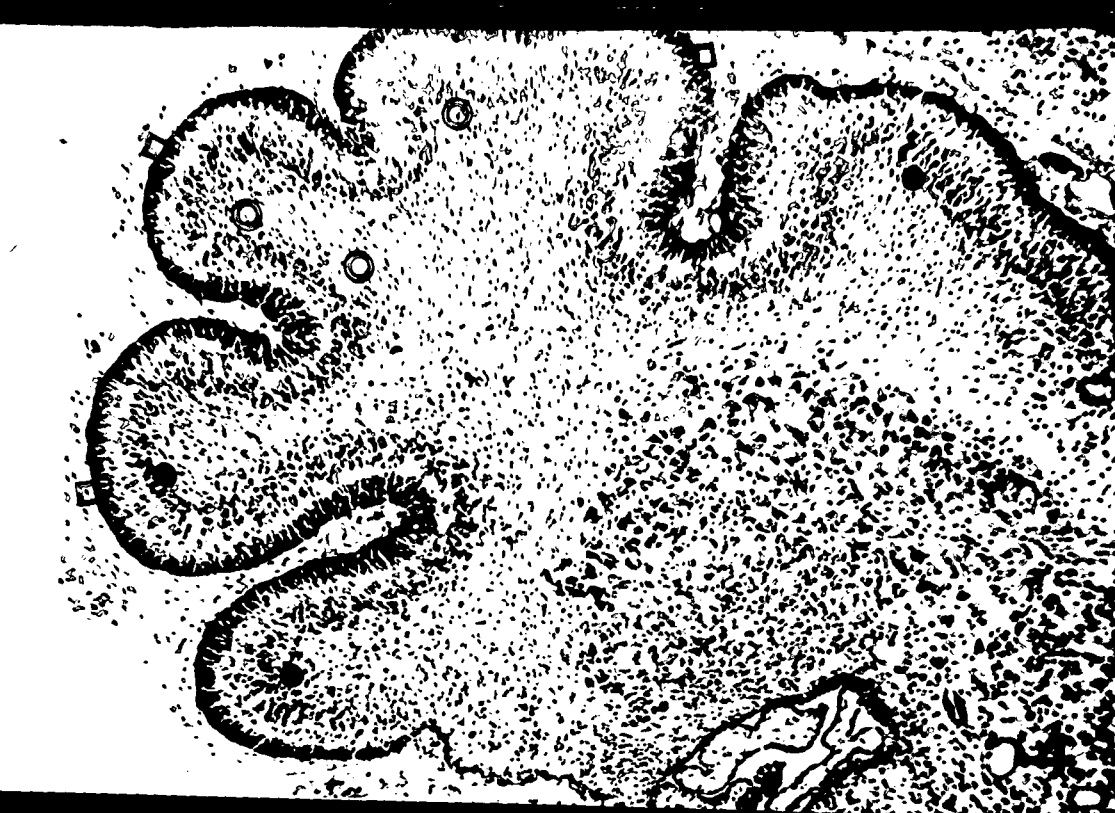
Fig. 22. Segmento de un corte de cerebelo correspondiente a una rata de 21 días de edad del grupo de madres ligadas-rehabilitadas, se observa persistencia de una línea continua de células granulares (□), así como numerosas figuras neuronales migratorias (☆) a nivel de la capa molecular. H-E X 270.

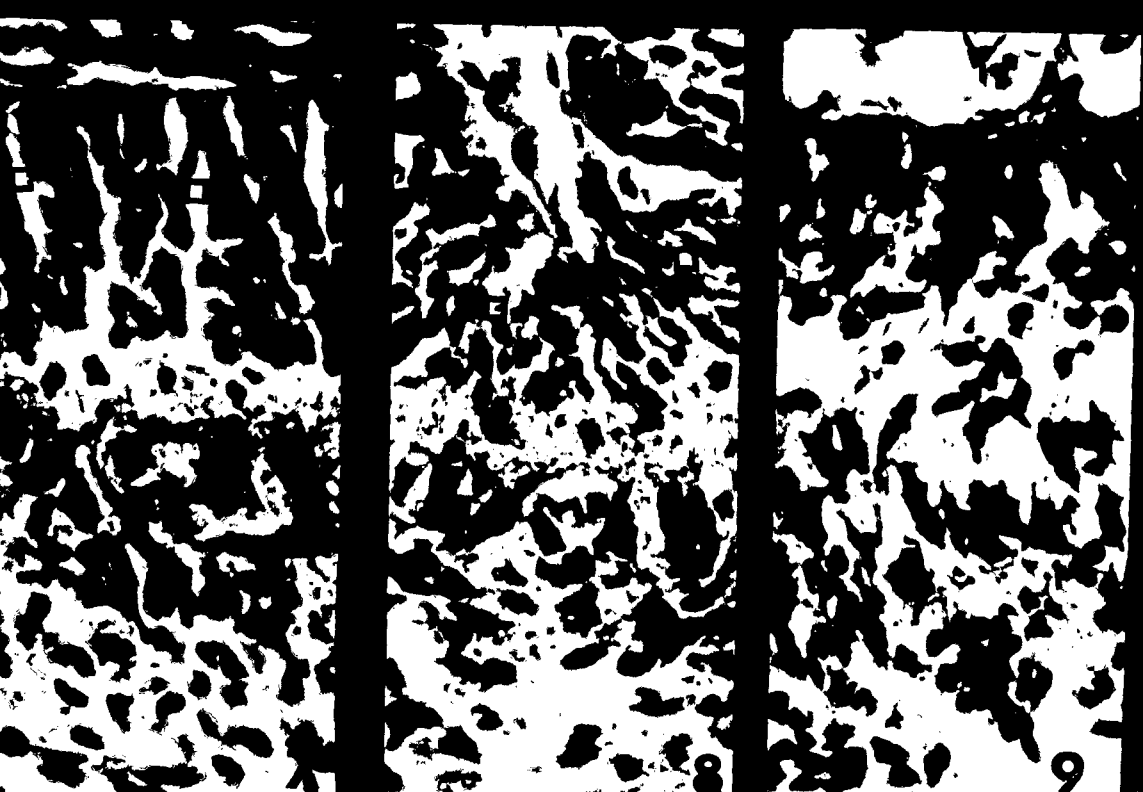
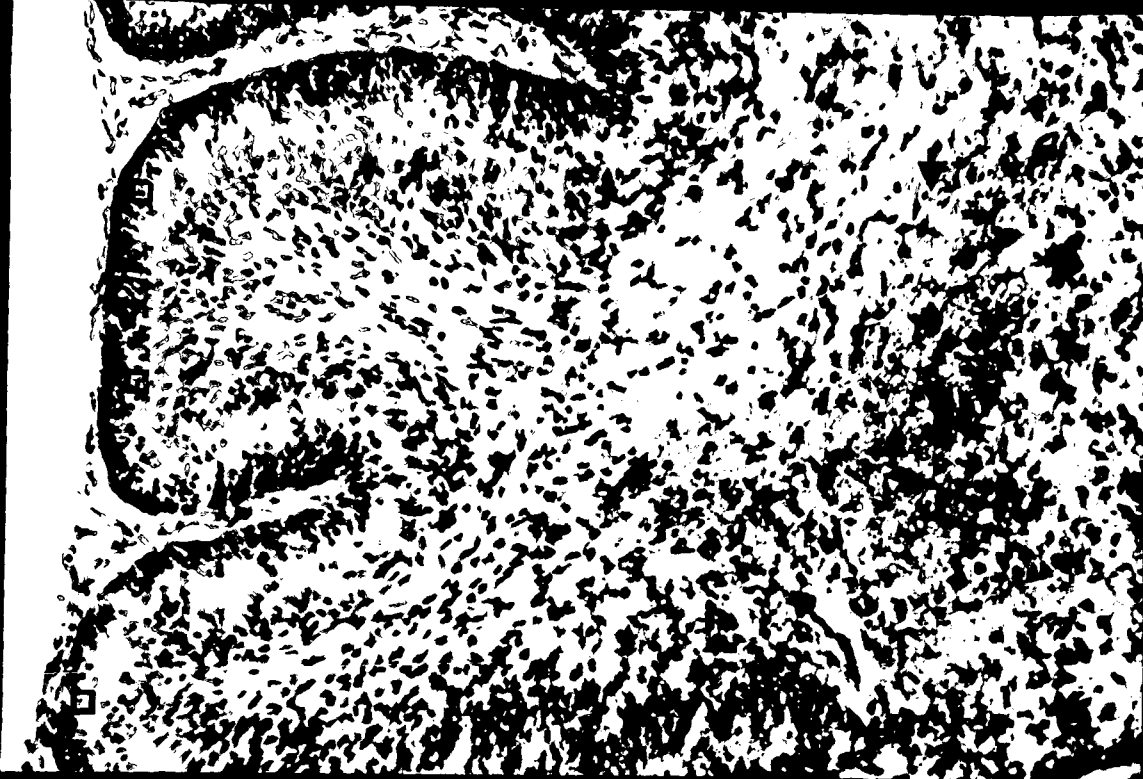
Fig. 23. Parte superior de una folia del vermis de un animal del mismo grupo y de la misma edad que el anterior de madres ligadas-desnutridas. Se observa persistencia de una línea completa de células granulares en la región más externa de la capa molecular (□), unas cuantas células de Purkinje desaparecieron por lo que aparecen espacios vacíos en su sitio correspondiente (V), otras muestran signos degenerativos (—). K-B X 180.

Fig. 24. A mayor amplificación se muestran las principales capas del vermis cerebelar de animales de 21 días de edad ligados-rehabilitados. Pueden distinguirse algunas neuronas granulares persistentes en el límite superior de la capa molecular (□), así como escasas células migratorias del mismo aspecto a través de la capa molecular que también aparecen entremezcladas con células de Purkinje (☆). El resto del tejido revela una apariencia normal. H-E X 960.

Fig. 25. Fotomicrografía de un fragmento de vermis perteneciente a una rata de 21 días de edad del grupo de madres ligadas-desnutridas. Se muestra solamente la línea de células de Purkinje en la cual aparecen espacios vacíos (V), así como alteraciones de grado variable en la población restante, se observan células granulares sin delimitación precisa y en menor número en comparación con los controles. El neurópilo presenta un aspecto denso característico. K-B X 850.

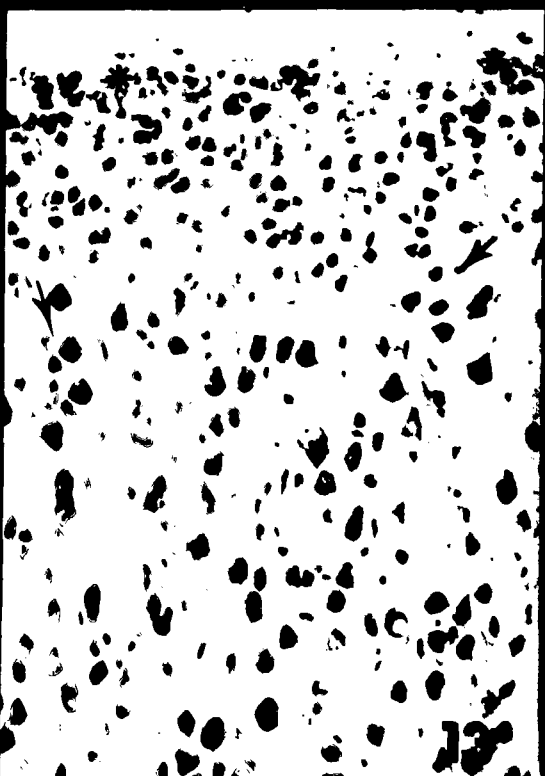
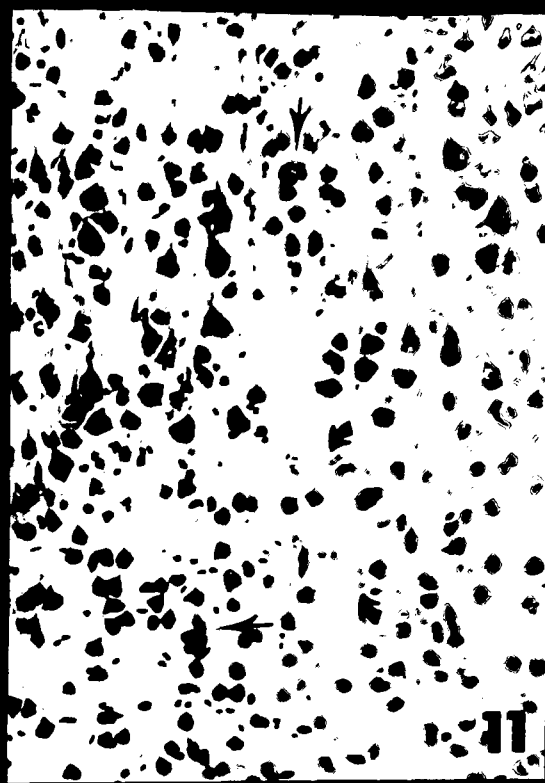
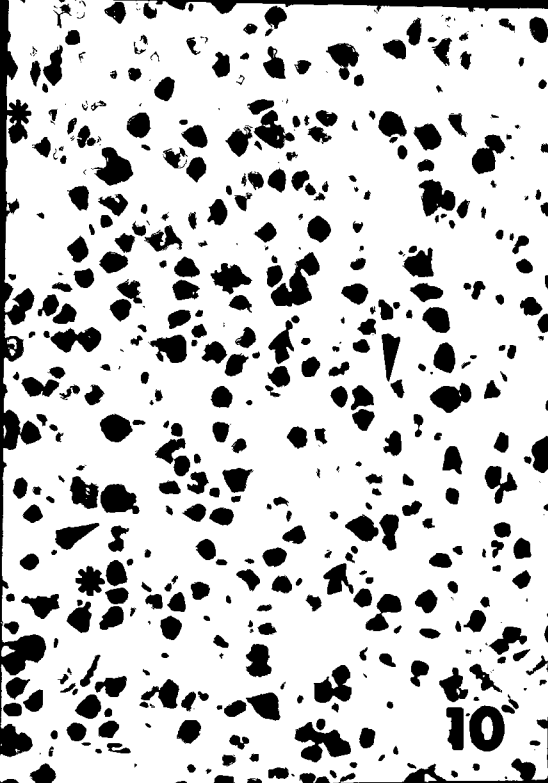


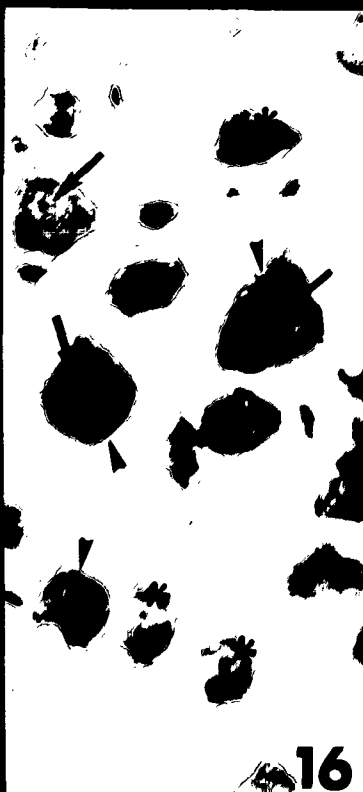
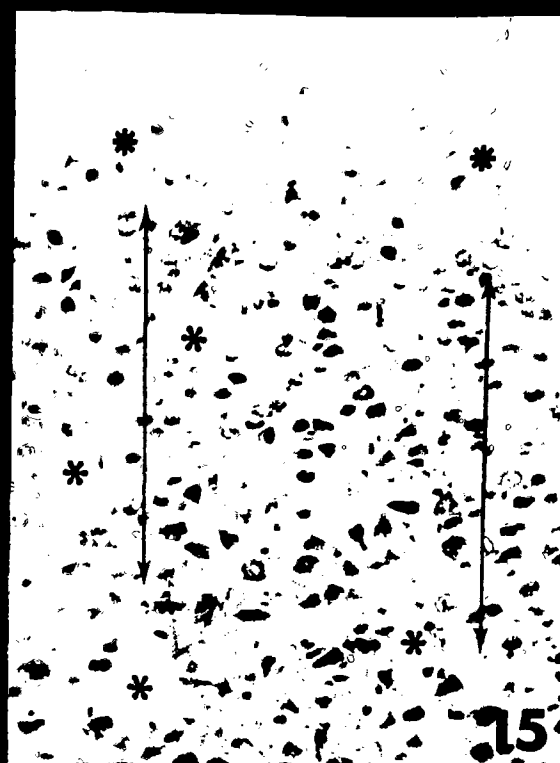




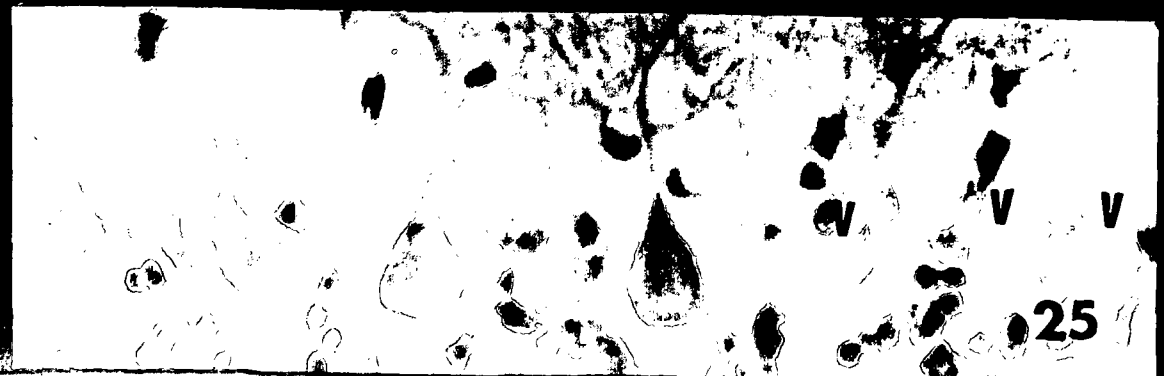
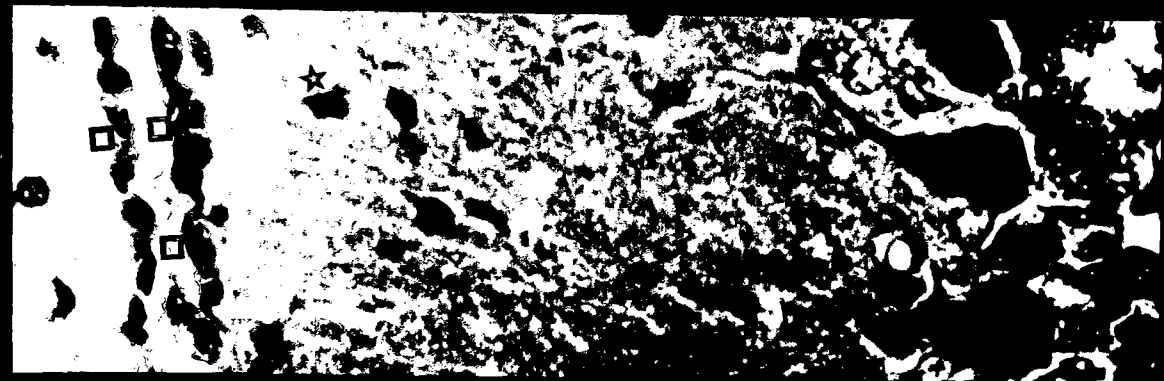
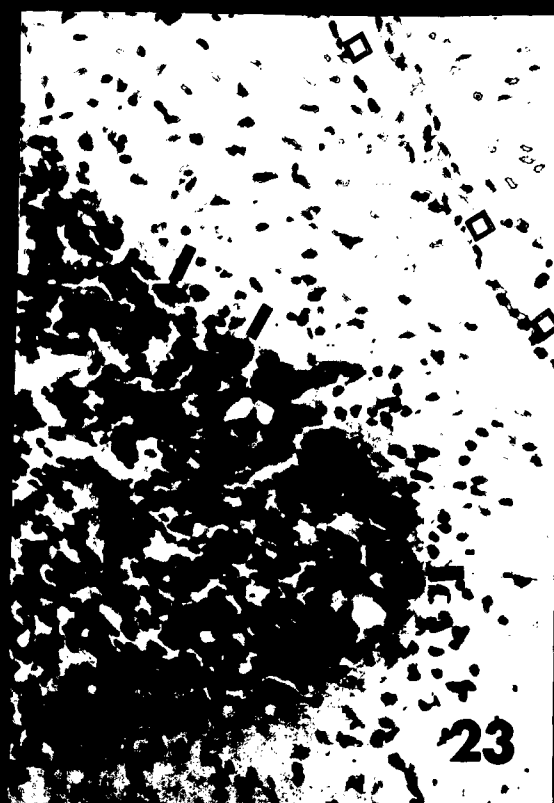
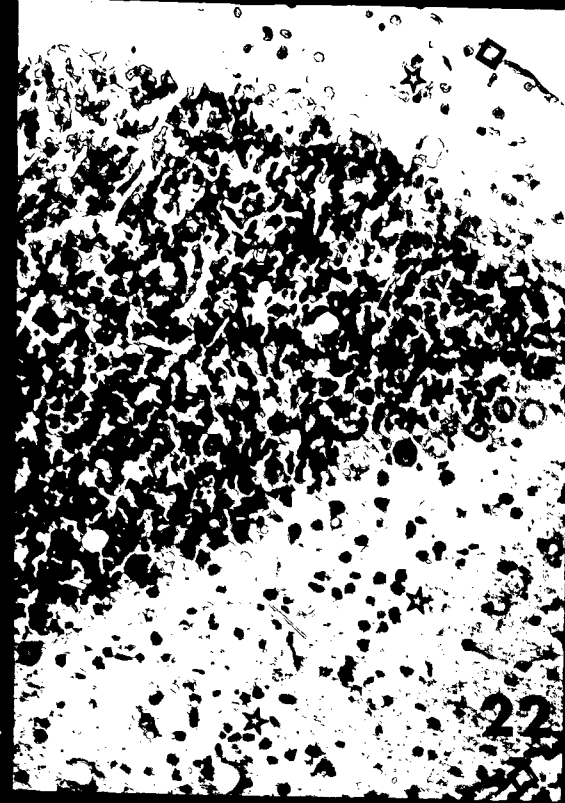
8

9









ANEXO DE RESULTADOS. Representación gráfica.

Estudio morfométrico.

- 1.- Se muestran las diferencias significativas en el peso corporal y cerebral de animales control y experimentales recién nacidos ($P < 0.01$) así como la relación entre estos dos parámetros para cada grupo.
- 2.- La gráfica compara las diferencias entre el tamaño corporal, y cerebral de los diferentes grupos estudiados, así como la proporción que guarda la longitud craneo-caudal de las crías con el perímetro craneal, para estos últimos parámetros solamente se encontró significancia en los productos de madres desnutridas al momento del nacimiento ($P < 0.01$), y en los productos ligados solo se observaron diferencias en el tamaño del cráneo.
- 3.- En esta gráfica se hacen evidentes las variaciones significativas en el peso corporal y cerebral de los grupos ligados-desnutridos y desnutridos-desnutridos respecto a los demás grupos restantes: control, desnutridos-rehabilitados y ligados rehabilitados cuando la progenie alcanzó 21 días de edad ($P < 0.01$).
- 4.- Se hace notar la disminución significativa del tamaño corporal y cerebral de animales desnutridos-desnutridos de 21 días de edad a una $P < 0.01$. Las ratas pertenecientes al grupo ligado-desnutrido mostrarán diferencias importantes en el tamaño de la cabeza.

Experimentales al momento del nacimiento, por efecto de la ligadura de las arterias uterinas al día 15 de la gestación, o por disminución de un 50% del contenido normal de proteínas en la dieta desde el primer día de preñez, así como las consecuencias resultantes en productos provenientes de ambos grupos que fueron sometidos respectivamente a restricción alimentaria postnatal o rehabilitación durante la etapa de lactancia hasta los 21 días de edad.

	Promedio de crías por madre al nacimiento.		Peso (g) de crías recién nacidas			Peso (g) de animales de 21 días de edad.					
	n	\bar{X}	V I V O S			n	\bar{X}	D.S.	C.V.%		
CONTROL	30	7.5	6.60	+ -	0.43	6.86	16	47.82	+ -	0.36	0.76
LIGADOS	28	7.0	4.59	+	0.64	14.11	DESNUTRIDOS				
							8	28.80	+ -	11.65	40.46
DESNUTRIDOS	50	7.0	4.81	+	1.07	21.62	REHABILITADOS				
							DESNUTRIDOS				
							12	35.014	+ -	1.39	3.97
			M U E R T O S				REHABILITADOS				
		1.3	4.28	+ -	1.3	30.69	12	48.47	+ -	0.78	1.61

n = Número de animales nacidos por grupo.

* = Valores que son estadísticamente significativos respecto al control a una $P < 0.01$

CUADRO NO. 2. Se muestran los valores obtenidos del peso cerebral de las crías control y experimentales al nacimiento y a los 21 días de edad con Rehabilitación postnatal ó Desnutrición continuada. Solamente se encuentran diferencias significativas a los 21 días de los grupos Ligados-Desnutridos y Desnutridos-Desnutridos. Estos tuvieron una reducción de 7.99% respecto al control.

Peso cerebral (g) de crías Recien nacidas					Peso Cerebral (g) de animales de 21 días de edad.					
	n	\bar{X}	D.S.	C.V. %	n	\bar{X}	D.S.	C.V. %		
CONTROL	30	0.1993	\pm	0.00093	.4666	16	1.1389	\pm	0.5686	49.92
LIGADOS	28	0.2059	\pm	0.00503	2.44	DESNUTRIDOS				
						8	*1.087	\pm	0.1508	13.87
						REHABILITADOS				
DESNUTRIDOS	50	0.2149	\pm	0.01491	6.93	8	1.3452	\pm	0.1058	7.86
						DESNUTRIDOS				
						12	*1.0088	\pm	0.1082	10.72
						REHABILITADOS				
						12	1.1765	\pm	0.0933	7.93

n = Número de animales nacidos por grupo.

* = Valores que son estadísticamente significativos respecto al control a una $P < 0.01$

males estudiados. Al igual que en los parametros anteriores, los grupos -- Ligados-Desnutridos y Desnutridos-Desnutridos, presentaron una reducción de 23.67% y de 14.82% respectivamente comparados a los controles de 21 días de edad y solamente la progenie de ratas Desnutridas indicó menores valores al nacimiento.

Perimetro Cefálico (cm.) Recien Nacidos				Perimetro Cefálico (cm) 21 días			
n	\bar{X}	D.S.	C.V. %	n	\bar{X}	D.S.	C.V. %
CONTROL	30	4.0333 ± 0.3518	8.722	16	7.35 ± 0.2267	3.084	
LIGADOS	28	4.150 ± 0.2181	5.72	DESNUTRIDOS			
				8	*5.61 ± 1.2240	21.81	
				REHABILITADOS			
DESNUTRIDOS	50	*3.812 ± 0.6233	15.0	DESNUTRIDOS			
				12	*6.26 ± 0.6400	10.22	
				REHABILITADOS			
				12	7.4 ± 0.3437	4.64	

n = Número de animales nacidos por grupo.

* = Valores que son estadísticamente significativos respecto al control a una $P < 0.01$

CUADRO No. 4. En el presente cuadro se aprecian los efectos adversos de los dos modelos experimentales sobre el tamaño al momento del nacimiento, y solamente evidentes a los 21 días de edad en grupos de animales Desnutridos-Desnutridos. Estos datos indican un desarrollo oseo adecuado durante la vida postnatal del resto de los animales.

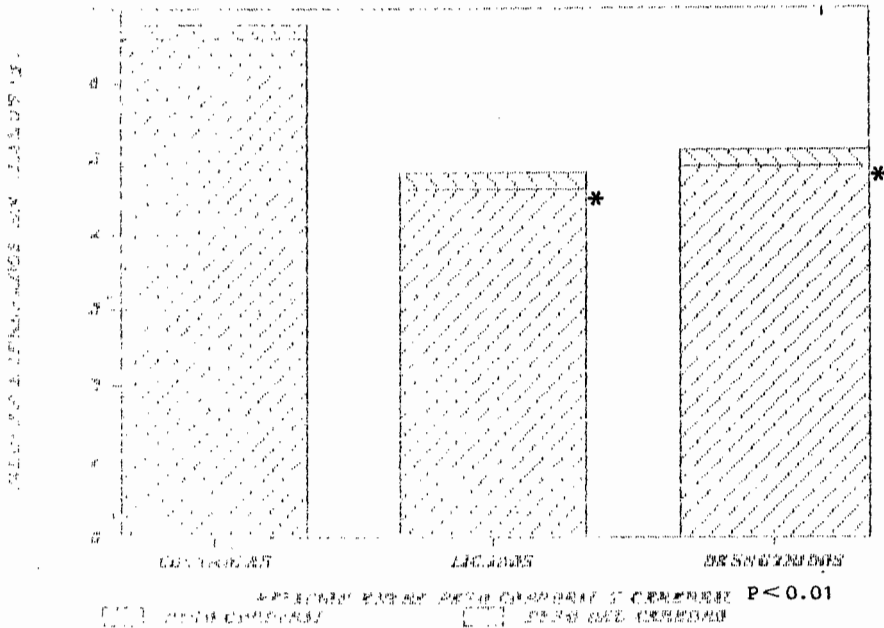
		Longitud Craneo Caudal (cm) Recien Nacidos			Longitud Craneo Caudal (cm) 21 días			
	n	\bar{X}	D.S.	C.V. %	n	\bar{X}	D.S.	C.V. %
CONTROL	30	6.8133	\pm 0.5501	8.07	16	21.3375	\pm 1.8912	8.86
LIGADOS	28	*5.7321	\pm 0.5987	10.44	DESNUTRIDOS			22.09
					8	16.975	\pm 3.7445	
DESNUTRIDOS	50	*5.820	\pm 0.9147	15.71	REHABILITADOS			14.47
					8	19.375	\pm 2.8049	
					DESNUTRIDOS			
12	*16.758	\pm 0.4187						
					REHABILITADOS			3.95
					12	19.8225	\pm 0.7840	

n = Número de animales nacidos por grupo.

* = Valores que son estadísticamente significativos respecto al control a una $P < 0.01$

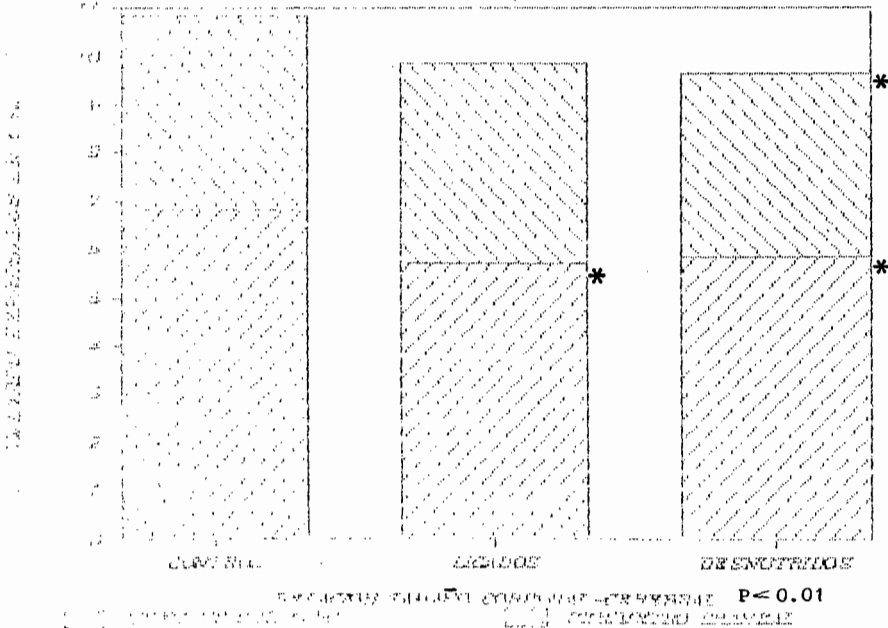
1 TAMAÑO CORPORAL Y CEREBRAL DE RATAS

EN LAS ETAPAS DE LA VIDA Y EN EL TIEMPO DE MOVIMIENTO



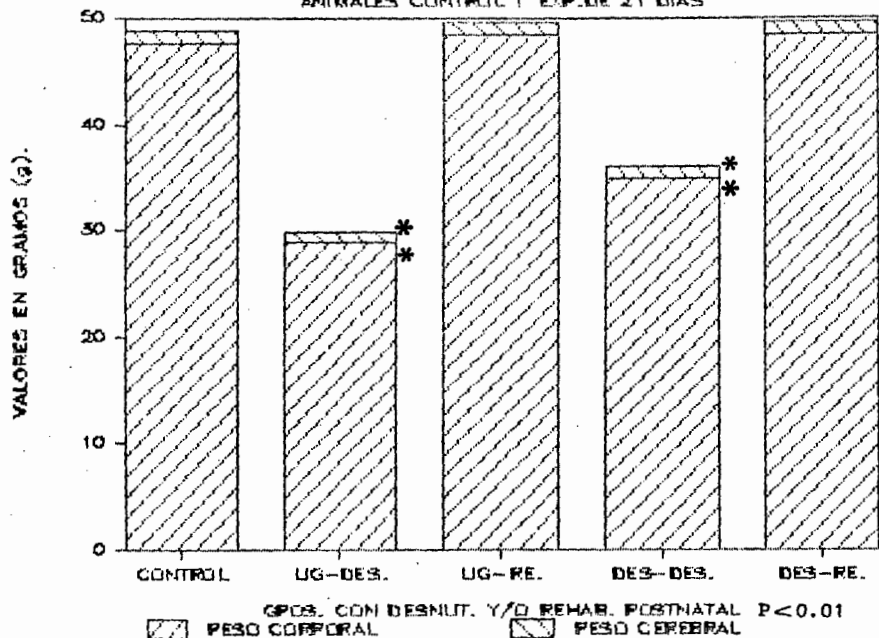
2 TAMAÑO CORPORAL Y PERÍMETRO CRANEAL

EN LAS ETAPAS DE LA VIDA Y EN EL TIEMPO DE MOVIMIENTO



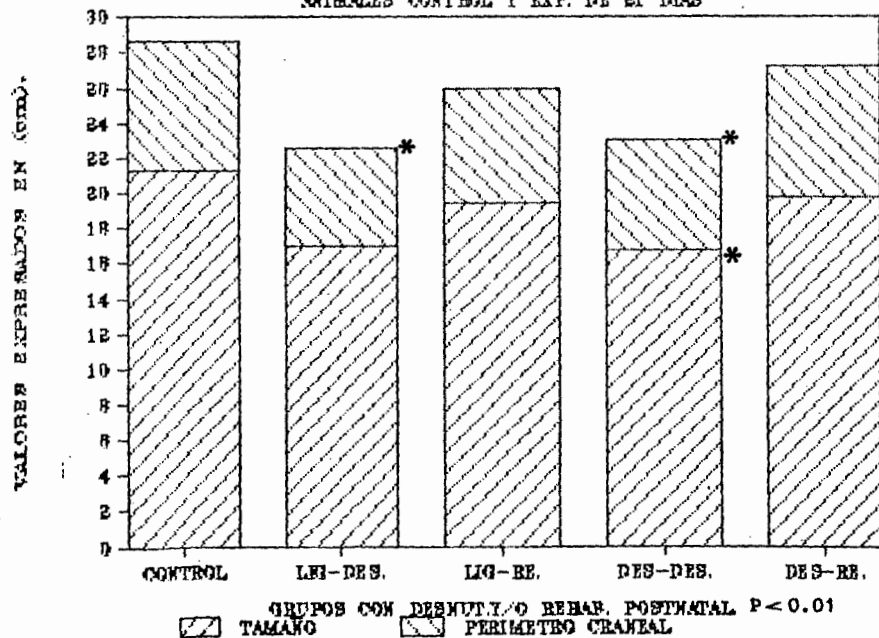
3 PESO CORPORAL Y CEREBRAL DE RATAS

ANIMALES CONTROL Y EXP. DE 21 DIAS



4 TAMAÑO CORPORAL Y PERIMETRO CRANEAL

ANIMALES CONTROL Y EXP. DE 21 DIAS



DISCUSION

Los modelos experimentales de restricción alimentaria y ligadura provocaron efectos semejantes en el peso corporal de los productos, aunque la isquemia uterina causó las alteraciones más notables, ambos revelaron resultados significativamente diferentes respecto al control, los efectos de los dos modelos sobre el peso cerebral de recién nacidos fueron comparables entre sí, y ligeramente diferentes del control aunque no significativos.

Las alteraciones más importantes se hicieron evidentes en los animales de 21 días de edad que fueron desnutridos durante su vida postnatal (Cuadro No.2), estos datos están de acuerdo con reportes de otros autores que señalan una mayor vulnerabilidad del cerebro cuando se produce desnutrición durante el desarrollo, ya que otros órganos no resultan tan afectados, también se señala que existe una relación directamente proporcional entre la disminución del peso corporal y peso cerebral como consecuencia de la desnutrición materna durante la vida postnatal inmediata (16,43-45).

El perímetro cefálico de los animales desnutridos fue el menor al momento del nacimiento debido a que los efectos de la disminución del contenido de proteína en el alimento se produjeron desde las primeras etapas de embriogénesis, lo que trajo como consecuencia una reducción en el tamaño de la cabeza del 5.48% en relación con los controles, la isquemia uterina experimental no afectó el tamaño del cráneo ya que este estaba en un estado de maduración avanzado al día 15 de la gestación (18,46-48).

Al momento del nacimiento las crías de madres desnutridas mostraron signos de incapacidad respiratoria y algunos murieron (53-54,56), esto se presentó en la progenie de madres ligadas por la misma razón señalada, sin embargo después del nacimiento los trastornos en el desarrollo encefálico y corporal resultaron más severos en estos últimos .

En nuestro estudio pudimos establecer una correlación positiva entre la disminución del peso corporal y el tamaño de todos los animales experimentales al nacimiento, sin embargo a los 21 días de edad el peso de las ratas Ligadas-Desnutridas fue significativamente diferente al control, no así el tamaño, que por el elevado coeficiente de variación resultó comparable al control.

Lo anterior indica que a pesar de que los animales tuvieron grandes variaciones en su velocidad de crecimiento, en general no fueron capaces de aumentar su masa muscular y otras reservas corporales , por lo que su peso fué el menor de todo el grupo estudiado a los 21 días de edad (57-59).

Esta bien demostrado que la desnutrición postnatal provoca una reducción en el tamaño del animal, tal como se observó en el grupo de ratas con madres restringidas, mientras que en el grupo de hembras Ligadas-Rehabilitadas se encontraron pesos semejantes a los controles (3, 49-51).

Los animales más afectados en su tamaño al final del experimento fueron los del grupo Desnutrido-Desnutrido, algunos de estos mostraron un tamaño comparable al de los Ligados-Desnutridos (Cuadro No.4). Está reportado que generalmente la disminución del tamaño corporal es permanente cuando se produce durante la etapa,

de lactancia, ya que en esta etapa los tejidos son particularmente vulnerables por encontrarse en fase de proliferación y diferenciación celular (5,16,47,48,52).

Sin embargo está demostrado que no existe una relación directa entre la rehabilitación corporal y la del S.N.C. (33, 60-62), esto se hizo evidente al realizar el estudio histológico del encéfalo de animales de 21 días de edad. Los cortes de cerebro de las crías experimentales recién nacidas no revelaron alteraciones notables en la apariencia individual y organización celular (Figs. 1-3), como se ha descrito en otros trabajos (63,64).

En cortes de cerebelo las células de Purkinje aparecieron con una distribución anormal, se observaron también irregularidades en el espesor de la banda granular externa (Figs. 4-9). Estos cambios indican un retardo en el proceso de maduración (65).

Cuando se examinó la corteza cerebral de animales de 21 días de edad previamente sometidos a restricción prenatal y desnutrición posterior se observó una distribución neuronal anormal que también se ha visto en otros estudios (62), en algunas áreas estaban presentes numerosas neuronas, en otras se observó una marcada depoblación. En general, se encontró un menor número de células (Figs. 13,14), también aparecieron figuras picnóticas y necróticas en número variable, así como células indiferenciadas (67).

En animales Ligados-Desnutridos se observó proliferación glial en el grupo Desnutrido-Desnutrido, se puede interpretar como una respuesta adaptativa tardía (68-70), ya que el efecto restrictivo se ejerció desde las etapas primarias de

embriogénesis.

En todas las crías con deprivación postnatal y desnutrición posterior continuada se produjo una interferencia severa en la síntesis de proteínas, ADN y ARN lo cual provocó un desarrollo retardado del S.N.C., así como disminución en la población celular final y diferenciación incompleta (68). Estos cambios han sido demostrados mediante estudios bioquímicos (71), junto con una interferencia metabólica manifiesta por el bajo peso al nacer de los productos y la incapacidad para mantener la función respiratoria en el caso de las crías desnutridas (53). Como consecuencia de la reducción de aminoácidos, glucosa, oxígeno y otros elementos se inhibió el estímulo mitótico normal, por lo que resultaron menos células cuando terminó la etapa de máxima proliferación (66,68).

Normalmente en los primeros 13 días postnatales se produce una intensa división celular en el tejido nervioso (71), después del día 20 cesa la actividad de ADN y solo las células gliales conservan la capacidad de dividirse, en las neuronas solamente sucede especialización posterior mediante crecimiento de sus proyecciones, especialmente axones cortos (71-73).

Por lo anterior la cantidad disminuida de células nerviosas en los animales experimentales podrían aumentar solamente si la restricción hubiera producido un desfase cronológico de las etapas proliferativas. Además de los cambios descritos también resulta un retardo en la etapa de mielinización postnatal así como una mielinización incompleta, que han sido descritos en otros trabajos semejantes (71).

La restricción nutricional durante la lactancia es especialmente crítica para el desarrollo del cerebelo, ya que este órgano madura sobre todo durante la vida postnatal inmediata (52).

Entre los principales indicadores de maduración cerebelar están:

1) - La desaparición de la banda granular externa (Fig. 19) debido a que las células presentes en esta migran a regiones más profundas.

2) La variación en el espesor de esta capa.

Sin embargo en algunas enfermedades tiroideas también se produce retardo en la migración (69).

Existe una sincronización entre el tiempo de migración de las células granulares y maduración de las células de Purkinje, por lo que ambas se alteran cuando se modifica la filogénesis normal del cerebelo, en nuestro estudio se observó esta relación patológica.

Por otra parte, se ha reportado que las células de Purkinje son extremadamente sensibles a efectos adversos, tanto durante el desarrollo, como en sujetos adultos (34,75), estas fueron las más afectadas como consecuencia de la restricción prenatal y/o postnatal en nuestro estudio.

Nuestros hallazgos están de acuerdo con los de otros autores quienes mediante métodos bioquímicos estudiaron los efectos de rehabilitación durante la lactancia y encontraron concentraciones semejantes de ácidos nucleicos y proteínas en cerebro y cerebelo de animales que fueron rehabilitados o desnutridos (63,76).

En cerebelo de animales desnutridos durante la lactancia observamos abundantes células granulares en la capa molecular (Fig. 20,23,25), así como alteraciones en las células de Purkinje que en algunos casos revelaron lisis total (Figs. 23,25) además de

Otras anomalías en la diferenciación celular, que fueron más evidentes en la progenie de madres ligadas. Las alteraciones descritas fueron muy parecidas a las de animales rehabilitados durante la lactancia, aunque en estos fueron más notables ya que casi desapareció completamente la capa de células granulares externas (figs. 21,22,24). Sin embargo, también se encontraron lesiones en células de Purkinje, aunque en un menor número.

Las alteraciones estructurales fueron menos aparentes en corteza cerebral de animales desnutridos o rehabilitados durante la lactancia, en ratas de este último grupo se encontró una distribución irregular de células, así como algunas figuras neuronales con basofilia marcada, piconosis y en algunos casos hasta necrosis, las crías provenientes del modelo de ligadura fueron las más afectadas. En tejidos de animales no rehabilitados se hicieron evidentes las mismas anomalías descritas y también con mayor intensidad de productos de madres ligadas.

Por otra parte las crías desnutridas durante la vida postnatal no resultaron muy afectadas en su S.N.C. y el peso solo se redujo medianamente debido al número reducido de la camada. Al parecer durante esta etapa de lactancia se manifiestan con mayor severidad los efectos de la restricción alimentaria materna.

El encéfalo de los animales experimentales no reaccionó en forma homogénea a las situaciones postnatales establecidas, particularmente los animales rehabilitados revelaron algunas áreas de corteza cerebral de aspecto normal, mientras que en otras, aparecieron alteraciones celulares iguales a las de los animales sin rehabilitación.

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran la importancia de mantener una buena alimentación en madres gestantes, así como durante la vida postnatal inmediata de los productos, ya que como resultado de la desnutrición puede llegar a producirse lesiones irreversibles cuando se asocian diversas circunstancias adversas, también debe evitarse que se produzca una disminución en el flujo sanguíneo materno-fetal, ya que estas patologías provocan cambios semejantes.

CONCLUSIONES

- 1.- Los modelos de restricción alimenticia y ligadura causaron efectos muy semejantes en el peso corporal de animales recién nacidos, así como en el resto de los parámetros estudiados.
- 2.- Las madres afectadas por uno u otro modelo durante la preñez y alimentadas con dieta normal durante la lactancia desarrollaron crias de pesos semejante entre si e iguales a los controles a pesar de las diferencias iniciales.
- 3.- Todos los productos con desnutrición postnatal resultaron afectados en forma moderada, en comparación con otros estudios, solo se produjo una disminución del 30% del peso corporal en los casos más severos, a pesar de la alta vulnerabilidad en esta etapa.
- 4.- Las principales alteraciones en cerebro de productos Desnutridos-Desnutridos fue un retraso en la maduración.
- 5.- En las crias Ligadas-Desnutridas se presentaron además lesiones cerebrales de mayor severidad como degeneración y necrosis neuronal .
- 6.- Solamente en el cerebelo apareció desarreglo estructural con mayor severidad en el grupo de las crias ligadas, las alteraciones se hicieron manifiestas en los animales de 21 días.
- 7.- Los pesos de los animales rehabilitados fueron semejantes a los de los controles. no sucedió lo mismo con la citoarquitectura encefálica, ya que la organización celular de estos fué más parecida a la de los animales experimentales desnutridos.
- 8.- En base a todo lo anteriormente expuesto se puede concluir que los dos modelos de restricción prenatal utilizados produjeron

alteraciones morfométricas e histológicas comparables a través del estudio, los cambios más notorios se encontraron en cerebelo.

B I B L I O G R A F I A.

- 1.- WINICK, M., NOBLE, A. (1968) Quantitative changes in ribonucleic acids and proteins during normal growth of rat placenta. *Nature*. 212, 34.
- 2.- WINICK, M., BRASEL, J.A., RUSSO, P. (1972) Nutrition and cell growth in nutrition and development. Winick, M. (Ed). N. York. John Willey and Sons. p. 49.
- 3.- FORBES, W.B., TRACY, C., RESNICK, O., MORGANE, P.J. (1977) Effect of protein malnutrition during development on sleep behaviour of rats. *Exp. Neurol.* 57, 440-457.
- 4.- FORBES, W.B.A., STERN, C., TRACY, C.A., RESNICK, O., MORGANE, P.J. (1978) Effect of chronic protein malnutrition on experimentally induced seizures in the rat. *Exp. Neurol.* 62, 475-481.
- 5.- ROBERT, E. KLEIN., JEAN, P.H., YARBRONG, CH. (1970) Effects of protein-calorie malnutrition on mental development. *Nat. Inst. of Child Health and Human Develop.* p. 75-90, INCAP, Guatemala city, Guatemala, C.A.
- 6.- HABICHT, J.P. (1969) Abnormalities in histidine and phenylalanine metabolism in protein-calorie malnutrition. Ph. D. Dissertation. Mass. Inst. of Technology, Cambridge, Mass.
- 7.- VEGA, F., ROMO, G., TOCA, T. (1982) Efecto de la desnutrición en las etapas fetal y de la lactancia sobre el crecimiento del sistema nervioso de la rata. *Depto. de Nutr. y Gastroenterol. Hospital Infantil de México " Federico Gómez "* 118, 272-278.
- 8.- SMITH, C.G. (1934) The volume of the neocortex of the albino rat and the change it undergoes with age after birth. *J. of Comp.*

Neurol. 60, 319-347.

9.- ZAMENHOF, S., VAN MARTHENS, E., GRAVEL, L. (1971) DNA (cell number) in neonatal brain: Second generation (F2) alterations by maternal (F0) dietary protein restriction. Science. 172, 850-851.

10.- COWLEY, J. J., GRIESEL, R.D. (1959) Some effects of a low protein diet on a first filial generation of white rat. J. Genet. Psychol. 95, 167.

11.- DEL ANGEL, A.R., TAPIA-ARIZMENDI, G., FERIA-VELASCO, A. (1964) Effects of food restriction during lactation on postnatal development of rat cerebellum. Correlative biochemical and structural study. Nut. Rep. Int. 30, 95-109.

12.- COLLEY, W. Y., MERTZ, E. (1966) Effect of food restriction and age on rat brain phospholipid levels. Fed. Proc. 25, 674.

13.- DOBBING, J. (1972) Vulnerable periods of brain development; Lipids, malnutrition and developing. Brain. 9, 29.

14.- BARNES, R.H., MOORE, A.U., POND, W. G. (1969) Behavioural abnormalities in young adult pigs caused by malnutrition in early life. J. Nutr. 100, 149-155.

15.- BARNES, R.H., MOORE, A.U., REID, I.M., POND, W.G. (1968) Effect of food deprivations on behavioural patterns. In: Malnutrition, Learning and Behaviour. p. 203, Scrimshaw, N.S. and Gordon, E. j., M.I.T. Press Cambridge, Mass.

16.- SUGITA, N. (1918) Comparative studies on the growth of the cerebral cortex, 1, on the changes in the size and shape on the cerebrum during the postnatal growth of the brain albino rat. J. Comp. Neurol. 28, 495-509.

17.- JACKSON, C.M. (1915) Change in the relative weights of the

various parts, systems and organs of young albino rat held at a constant body weight by underfeeding for various periods. J. Exp. Zool. 19, 99-106.

18.- NITZAN, M., ORLOFF, S., SCHULMAN, J.D. (1979) Placental transfer of analogs of glucose and aminoacids in experimental intrauterine growth retardation. Pediatric. Res. 13, 100-130.

19.- CHASE, P.H., DORSEY, J., MC. KHANN, G.M. (1967) The effect of malnutrition on the synthesis of amyelin lipid. Pediatrics. 40, 551-558.

20.- ANDRADE DOS SANTOS J. (1981) Alteraciones circulatorias que incluyen anemia, isquemia, choque y anoxia. Patología general de los animales Domésticos. Ed. Interamericana, Mex. p. 360.

21.- RODRIGUEZ MASEDO, A.B. Efectos de la isquemia uterina en el ultimo tercio de la gestación sobre el desarrollo prenatal de ratas. Tesis profesional. Universidad de Guadalajara. 1986.

22.- DONALSON, H.H., HATAI, S. (1931) On the weight of the parts of brain and on the percentage of water in them according to brain weight and to age, in albino and in wild norway rats. J. Comp. Neurol. 53, 263-307.

23.- CHASE, H.P., LINDSEY, W.F.B., O'BRIEN, D. (1969) Undernutrition and cerebellar development. Nature 221, 554-555.

24.- ROBAIN, O., PONSOT, G. (1979) Effect of undernutrition on glial maturation. Brain Res. 149, 379-397.

25.- DIETMAR, B., VOLKER, B. (1978) Heredity and enviroment as formative factors in brain development. Imp. of Sci. on Society. 28, 11-25.

26.- DOBBING, J., WIDDOWSON, E.M. (1964) The effect of undernutrition and subsequent rehabilitation on mielinitation of

- rat brain as measured by its composition. Brain . 48, 357-366.
- 27.- FRAGMUTA, S., BARNES, R.H. (1968) Effect of malnutrition in early life avoidance conditioning and behaviour of adult rats. J. Nutr. 96, 485.
- 28.- BROOKES, A.J., VICENTTI, L.S. (1950) Beef production experiment at Cambridge. Interim Report. J. Roy. Agric. Engl. 111, 9.
- 29.- SIMA, A., PERSSON, L. (1975) The effect of pre and postnatal undernutrition on the development of the rat cerebellar cortex. Neurobiol. 5, 2324.
- 30.- LEVITSKY, D.A., BARNES, R.H. (1970) Effect of early malnutrition on the reaction of adult rats to adverse stimuli. Nature. 225, 466.
- 31.- GLUCKSMANN, A. (1915) Cell death in normal vertebrate ontogeny. Biol. Rev. 26, 59.
- 32.- CRAGG, B.G. (1972) The development of cortical synapses during starvation in the rat. Brain. 95, 143-150.
- 33.- ROBAIN, D., PONSOT, G. (1958) Effects of undernutrition on glial maturation. Brain Res. 149, 379-397.
- 34.- FALKOVITS, P.M., SZENTAGOTHAJ. (1971) Quantitative histological analysis of the cerebellar cortex in the cat. I. Number and arrangement in space of the Purkinje cells. Brain Res. 32, 1-13.
- 35.- HILLMAN, D.E., CHEN, S. (1981) Vulnerability of cerebellar development in malnutrition, II.- Intrinsic determination of total synaptic area on Purkinje cell spines. Neurosci. 6, 1263-1275.
- 36.- BARNES, D., ALTMAN, J. (1973) Effects of different schedules

of early undernutrition on the preweaning growth of the rat cerebellum. *Exp. Neurol.* 38. 406-419.

37.- GRIFFIN, S.T., WOODHEAD, D.J., CHANDA, R. (1979) Malnutrition and brain development: *J. Neurochemistry.* 28, 1269-1279.

38.- LOPEZ, C.A., AGUIRRE, U.V. (1975) Procedimiento técnico de los extendidos celulares, técnica de Papanicolau (modificada), Introducción al citodiagnóstico. Univ. de Guad. p. 49.

39.- MARTOJA, R. MARTOJA-PIERSON, M. (1970) *Histología general y Citología; Inclusión, Técnicas de Histología animal.* Toray-Masson, S.A. Barcelona, España, p. 24.

40.- KLUVER, H., BARRERA, E. (1953) Method for myeline and nerve cells. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 12, 400.

41.- DISBREY, B.D., RACK, J.H. (1970) Hematoxiline and eosine, Harris Hematoxiline and eosine. *Histological Laboratory Methods.* E. and S. Livingstone. Engl. p. 99.

42.- MANN, H.B., WHITNEY, D.R. (1947) On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *Ann. Math. Statist.* 18, 50-60.

43.- DONALSON, H.H. (1908) Comparison of the albino rat with man in respect to the growth of the brain and of the spinal cord. *J. Comp. Neurol. Psychol.* 18, 345-393.

44.- PRYOR, G. (1975) Malnutrition and the "Critical Period" hypothesis. En: *Brain function and malnutrition: Neuropsychological Methods of Assessment.* Prescott, J. W.; Real, M. S. y Coursin, D.B. (Eds). New York, John Wiley and Sons. p. 103.

45.- DOBBING, J. (1970) Undernutrition and the developing brain. In: *Developmental Neurobiology.* Edited by W. Himwich. Spring-Field: C.C. Thomas. p. 241-261.

- 48.- ZAMENHOF, S. (1964) The determination of deoxyribonucleic acid and of cell number in brain. *J. Neurochem.* 11, 505.
- 47.- BARNES, R.H., NEELY, C., KWONG, E., LADAH., FRANKOVA, S. (1969) Postnatal nutritional deprivation as determinants of adult rat behaviour toward food, its consumption and utilization. *J. Nutr.* 96, 467-476.
- 48.- BENTON, J.W., MORSE, H.W., DODGE, P.R., CARR, S. (1966) Modification of the schedule of myelination in the rat by early nutritional deprivation. *Pediatrics.* 38, 5, 801-807.
- 49.- RESNICK, O., MORGANE, P.J. (1984) Generational effects of protein malnutrition in the rat. *Develop Brain Res.* 15, 219-227.
- 50.- RESNICK, O., MILTER, M., FORBES, W., HALL, R., KEMPER, T., BRUNZINO, J., MORGANE, P.J. (1979) Developmental protein malnutrition: influences on the central nervous system of the rat. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 3, 233-246.
- 51.- STOCH, M.B., SMYTHE, P.M. (1963) Does undernutrition during infancy inhibit brain growth and subsequent intellectual development. *Arch. Dis. Childh.* 38, 546-552.
- 52.- EAYRS, A.T., GOODHEAND, B. (1955) Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. *J. Anat.* 93, 385-402.
- 53.- POLGAR, G. (1964) Respiratory disease syndrome of the newborn. *Clin. Notes on Resp. Dis.* (Spring): 4.
- 54.- NESBITT, R.E.L. Jr. (1964) Proceedings, Bi-regional Ins. on maternity. Care-primary prevention. Berkeley, Cal. University of California School of Public. Health. 48-50.
- 55.- FISHER, C.J., LEATHER, J.H. (1965) Effect of protein-free diet on protein metabolism in the pregnant rat. *Endocrinology.*

76,45.

- 56.- HAZELWOOD, R.L., NELSON, M.M. (1965) Steroid maintenance of pregnancy in rats in the absence of dietary protein. *Endocrinology*. 77, 999.
- 57.- COWLEY, J.J., GRIESEL, R.D. (1966) The effect on growth and behaviour of rehabilitating first and second generation low protein rats. 14, 506-517.
- 58.- WIDDOWSON, E.M., MC. CANCE, R.A. (1960) Some effects of accelerating growth. 1. General Somatic Development. *Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B*. 152: 188.
- 59.- WIDDOWSON, E.M., MC. CANCE, R.A. (1963) The effect of finite periods of undernutrition at different ages on the composition and subsequent development of the rat. *Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B*. 158: 329.
- 60.- DICKERSON, J.W., DOBBING, J., MC. CANCE, R.A. (1966) The effect of undernutrition on the postnatal development of the brain and cord in pigs. *Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B*. 166, 396-407.
- 61.- CHOW, B.F., LEE, C.J. (1964) Effect of dietary restriction of pregnant rats on body weight gain of the offspring. *J. Nutr.* 82, 10.
- 62.- KEMPER, T.L., PASQUIER, D.A., DRAZEN, S. (1978) Effect of a low protein diet on the anatomical development of subcortical formations. *Brain Res. Bull.* 3, 443-450.
- 63.- BASS, N.H., NESTKY, M.G. (1970) Effect of neonatal malnutrition on developing cerebrum-1 microchemical and histologic study of cellular differentiation in the rat. *Arch. Neurol.* 23, 289-302.
- 64.- ZAMENHOF, S., MARTHENS, E., MARGOLIS, F.L. (1968) DNA (Cell)

- number) and protein in neonatal brain: Alteration by maternal dietary protein restriction. *Science*, 160, 322.
- 65.- CHASE, P.H., DORSEY, J., MC. KHANN, G.M. (1967) The effect of malnutrition on the synthesis of amyelin lipid. *Pediatrics*, 40, 551-556.
- 66.- BRASEL, J.A., WINICK, M. (1972) Maternal nutrition and prenatal growth. *Arch. Dis. Child*, 47, 479.
- 67.- WINICK, M. (1970) Nutrition and nerve cell growth. *Fed. Proc.* 1510-1515.
- 68.- WINICK, M., NOBLE, A. (1965) Quantitative changes in DNA, RNA, and protein during prenatal and postnatal growth in the rat. *Develop. Biol.* 12, 451.
- 69.- RABIERE, A., LEGRAND, J. (1972) Effects comparés de la sous-alimentation de l'hypothyroïdisme et de l'hyperthyroïdisme sur la maturation histology de la zone molliclaire du cortex cérébelleux chez le jeune rat. *Archs. Microsc. Morph. exp.* 61, 105-126.
- 70.- ENESQ, M., LEBLOND, C.P. (1962) Increase in cell number as a factor in the growth of the organs of the young male rat. *J. Embriol. Exp. Morph.* 10, 530.
- 71.- SUSKIND, R.M., THANANGKUL, O., DANRONGSAK, D., LEITZMANN, C., SUSKIND, L., OLSON, R.E. (1977) Malnutrition and immune response. R.M. Suskind, Ed: (Raven Press, New York).
- 72.- ALTMAN, J., ANDERSON, W. J. (1972) Experimental reorganization of the cerebellar cortex - I Morphological effects of elimination of all microneurons with prolonged X-irradiation started at birth. *J. Comp. Neurol.* 146, 355-406.

- 73.- SALAS, M., DIAZ, S., NIETO, A. (1974) Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Res.* 23, 134-144.
- 74.-DÖEBING, J. (1972) *Mainutrition and the developing brain.* (Elsevier Excerpta Medica) North Holland. p. 9-20.
- 75.- SMOLJANINOV, V.V. (1966) Structural-functional models of certain biological system. In I. M. Gelfan, V.S. Fomi and M.L. Getlin (Eds). *Several characteristics in the organization of the cerebellum.* Izdatelstvo nauka, Moscow. 203-267.
- 76.- PRASEL, J.A., EHRENKRANS, R.A., WINICK, M. (1970) DNA polymerase activity rat brain during ontogeny. *Develop. Biol.* 23, 42.