



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
( NEUROBIOLOGIA )

CENTRO DE NEUROBIOLOGIA, CAMPUS UNAM-UAQ.  
JURIQUILLA, QUERETARO, QRO. MEXICO.

F. M.

**ALTERACIONES MORFOLOGICAS DE NEURONAS DEL  
NUCLEO MOTOR DEL NERVIO FACIAL, PROVOCADAS  
POR LA DESNUTRICION PERINATAL EN LA RATA  
(Rattus norvegicus).**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGIA)

*Biomedicas* P R E S E N T A:

M. EN C. F. ESTHER PEREZ TORRERO

275546

TESIS CON  
FALLA DE COPIA

Juriquilla Querétaro, Qro., México 1999.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIA

A mis amores entrañables e inseparables

Enrique

y

Enrique Ignacio

A mis padres

Antonio y Rafaela por darme lo más valioso ¡la vida!

A mis hermanos, con cariño

Ma. Luisa, Teresa, Yolanda, María, Marú, Carmen y Antonio

<b>ÍNDICE</b>	<b>Página</b>
RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
RECONOCIMIENTO	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
INTRODUCCIÓN	1
Generalidades en el desarrollo morfológico y funcional del tallo cerebral	2
Plasticidad en el tallo cerebral	5
EL NÚCLEO MOTOR DEL FACIAL (NF)	6
Ubicación y organización general	6
Neurogénesis y migración	8
Microambiente neuronal del NF	10
Aferencias y proyecciones del NF	11
Neurotransmisores y neuromoduladores	15
REFLEJO DE SUCCIÓN Y SUS COMPONENTES	16
DESNUTRICIÓN Y DESARROLLO NEURONAL	17
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
HIPÓTESIS	19
OBJETIVO GENERAL	19
OBJETIVOS PARTICULARES	20

MATERIAL Y MÉTODOS	20
Animales	20
Procedimiento de desnutrición y restitución nutricional	21
Procedimiento de ligadura de conductos galactóforos postparto	21
Medición del desarrollo físico	22
Procedimientos histológicos	22
Análisis morfométrico	23
Estadística	23
RESULTADOS	26
Alteraciones producidas por la desnutrición sobre el desarrollo físico	26
Apertura de conductos auditivos externos y párpados	26
Apertura de conductos auditivos externos	26
Apertura de párpados	27
Pesos corporal y cerebral	28
Efectos de las condiciones de nutrición sobre el desarrollo neuronal	32
Comparación de los grupos por condición nutricional	32
Número de ramas dendríticas	32
Extensión dendrítica	34
Efectos de las condiciones de nutrición sobre el desarrollo del soma neuronal	41
Comparación de los grupos experimentales por edad	44
Número de ramas dendríticas	44
Extensión dendrítica	47
Soma neuronal	50
DISCUSIÓN	54
CONCLUSIONES	63
REFERENCIAS	65

## RESUMEN

En la rata el núcleo del nervio facial (NF) está compuesto por diferentes tipos de neuronas multipolares, clasificadas en bipolares, triangulares y estrelladas, que se generan entre los días prenatales G12 y G15. La desnutrición dependiendo del momento en que se establezca, provoca atraso en el desarrollo ontogenético (prematurez), que se asocia a marcados retardos funcionales tanto en el corto como en el largo plazo. Dentro de las alteraciones que produce la privación perinatal de alimento, cabe destacar el deterioro del reflejo de succión, el cual es esencial para la nutrición del recién nacido. En los días posteriores al parto el substrato neural de este reflejo, es utilizado gradualmente para el establecimiento de respuestas más complejas que comprenden la masticación, la deglución y la ingesta de líquidos. En la regulación de dichos mecanismos tiene una importante participación el NF, ya que sus axones inervan a los músculos involucrados parcialmente en la succión. En el presente estudio empleando la técnica de Golgi-Cox se demostró que la desnutrición prenatal y posnatal en crías de 12, 20 y 30 días de edad, produce hipoplasia del árbol dendrítico de las neuronas del NF con efectos mínimos sobre los somas neuronales. Los hallazgos sugieren que estas alteraciones se producen debido a que el organismo desnutrido presenta un patrón de crecimiento neuronal atípico. Por lo cual se podría considerar que las alteraciones morfológicas de las neuronas del NF, podrían ser en parte la causa de las alteraciones en el reflejo de succión de las ratas desnutridas. Asimismo, que la restitución nutricional neonatal se puede considerar como una alternativa para aminorar los efectos de la desnutrición prenatal, ya que a juzgar por los resultados del estudio, las neuronas del NF presentan una aparente recuperación morfológica.

## ABSTRACT

The facial nucleus (FN) of the rat contains multipolar fusiform, triangular and stellate neurons which are generated between gestational days G12 and G15. Different studies have shown that this neuronal population is partially involved in the mechanisms underlying muscle contraction during suckling reflex. Moreover, that after birth the neuronal substrate of this reflex is gradually organized to allow several complex responses such as gnawing, chewing, swallowing and drinking. Perinatal undernutrition, frequently results in different degrees of brain prematurity, related to a severe delay in the physical growth of pups. In this regard brain alterations are associated to suckling reflex impairments which interfere with the feeding of the newborn. In the current study it was demonstrated in Golgi-Cox impregnated FN neurons of 12, 20 and 30 days of age that pre and postnatal food deprivation result in dendritic arbor hypoplasia that may be related to both a lack of nutrients and a delay in the normal growth of the neurons. Additionally data showed negligible effects upon the soma size of the three types of neurons except for the area which showed impairments throughout the study. Data suggested that the dendritic arbor hypoplasia and the minimal FN neuronal somatic effects may presumably interfere with the reception, integration and elaboration of motor discharges to modulate muscle contraction during suckling activity. Moreover, that neonatal nutritional restitution may have ameliorating effects upon FN neuronal maturation and the newborn suckling reflex.

## RECONOCIMIENTO

El presente estudio se llevó a cabo en el Centro de Neurobiología, Campus UNAM/UAQ Juriquilla Querétaro, México, bajo la dirección del Dr. Manuel Salas Alvarado. Con el patrocinio del CONACyT (Becario No. 80803), beca parcial de la DGAPA, el Programa de Apoyo a Estudios de Posgrado PAEP (Proyecto 030337), PAPIIT (Proyecto IN200997) y CONACyT (Proyecto 3714 PN).



## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Manuel Salas Alvarado, por su paciencia y su acertada dirección, sin la cual no habría sido posible la realización del presente trabajo.

A la Lic. Ma. Carmen Torrero Solorio, por su apoyo para llevar a cabo el trabajo de investigación.

Al comité tutorial, por su comentarios y sugerencias durante el desarrollo del proyecto de investigación.

Dr. Manuel Salas Alvarado  
Dr. Hugo Solís Ortiz  
Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina  
Dra. Ma. Teresa Morales Guzmán

A los miembros del jurado

Dr. Alfredo Feria Velasco  
Dr. Manuel Salas Alvarado  
Dr. Fructuoso Ayala Guerrero  
Dr. Hugo Solís Ortiz  
Dra. Carolina Escobar Briones  
Dr. Raúl Paredes Guerrero  
Dra. Ma. Magdalena Giordano Noyola

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Sofía Díaz Miranda y al Dr. León Cintra, por el apoyo que me han brindado durante mi formación académica.

A mis compañeros

M. en C. Agustín Galván Rosas  
M. en C. Azucena Aguilar Vazquez  
M. en C. Leticia Granados Rojas

A la Lic. Pilar Galarza Barrios por su colaboración en la búsqueda bibliográfica.

## INTRODUCCIÓN

La desnutrición perinatal es una de las influencias epigenéticas que con mayor frecuencia es causa de mortalidad infantil. Además produce retardo y deterioro estructural y funcional en el sistema nervioso central (SNC) de los sujetos que sobreviven. En las especies altriciales las alteraciones en la función cerebral que resultan de la desnutrición se manifiestan tanto en el desarrollo de la conducta refleja, como en procesos fisiológicos de gran plasticidad del tipo del aprendizaje, la atención selectiva y la expresión de la conducta social. Debido a que la rata de laboratorio es una especie altricial, ésta constituye uno de los mejores modelos biológicos, para evaluar el impacto provocado por diversos factores epigenéticos del tipo de la privación perinatal de alimento sobre la estructura y la función cerebrales (Dobbing, 1972).

La desnutrición perinatal, frecuentemente provoca diversos grados de prematurez que se asocian a marcados retardos en el desarrollo, siendo el cuadro clínico del organismo prematuro por sus características comparable al del organismo desnutrido. El síndrome de prematurez se diagnostica cuando el recién nacido tiene un peso corporal y talla menores al promedio, disminución en los perímetros cefálico, torácico y abdominal, escaso desarrollo del panículo adiposo e hipotermia. Los movimientos corporales son lentos y débiles, los reflejos de succión, prensión y deglución son prolongados en latencia independientemente de la edad de vida intrauterina (Hernández, 1954; Woodal y col., 1996). El deterioro del reflejo de succión, es un elemento que limita la ingesta de alimento, la ganancia en peso, dificulta la corrección de las alteraciones somatométricas y de la función cerebral que acompañan a este síndrome.

Durante la ontogenia de la rata el sistema nervioso se ensambla gradualmente de acuerdo al programa genético. Dicho programa comprende la expresión de una serie de eventos morfológicos y funcionales que se manifiestan a distintos tiempos en una secuencia temporal ordenada y precisa (heterocrónica) que se imbrica durante las etapas pre y postnatal. Debido a esta heterocronía en el desarrollo, cada evento regional, tracto o sistema presenta su propio período de máximo desarrollo así como su propia

vulnerabilidad a diferentes factores epigenéticos (Pascual y col., 1998; Dobbing y Sands, 1979). Estos eventos se muestran para el caso de la rata en la (Fig. 1) y comprenden la fase embrionaria, la fetal, el período de lactancia y el período postdestete que culmina con el estado adulto alrededor del día 60 postparto (Royland, 1992). En esta figura, puede observarse que los distintos procesos citogenéticos se imbrican a lo largo de los períodos prenatal y postnatal siendo también interdependientes.

### **Generalidades en el desarrollo morfológico y funcional del tallo cerebral**

Durante la ontogenia neural el tallo cerebral, inicia su formación en la gástrula tardía como resultado del cierre de la parte intermedia del surco neural cuyas células darán origen a la vesícula cerebral media o mesencéfalo (Jacobson, 1978). De células germinales periventriculares de esta región, se generarán todas las neuronas que formarán los núcleos de los pares craneanos que participan en el ingreso sensorial, en la regulación de funciones autonómicas y en el control de la actividad motora relacionada con la contractilidad de los músculos oculares, de la deglución, la masticación, la succión y la expresión facial.

El desarrollo del tallo cerebral es precoz comparado con el de otras regiones cerebrales, ya que permite gobernar el ritmo cardíaco, la circulación sanguínea, la actividad motora intrauterina, la sensibilidad somestésica y la gustativa relacionadas con la ingesta de líquido amniótico en el feto desde etapas tempranas de la vida. Para que tal regulación se lleve a cabo, se requiere que esta región cerebral tenga las propiedades plásticas suficientes para generar cambios en su organización citoarquitectónica y funcional con los cuales el recién nacido sea capaz de sobrevivir en la naturaleza. Por ejemplo, las neuronas que constituyen los núcleos reticulares del tallo cerebral, están provistas de numerosas bulbosidades y protoespinas que a medida que el feto se aproxima a la etapa del parto, sufren un proceso de reabsorción, de crecimiento dendrítico y de aparición de espinas que reorganizan los circuitos cerebrales, para adaptar al recién nacido a las drásticas demandas provocadas por el inicio de las interacciones con el mundo exterior (Scheibel y col., 1973). En el presente, es escasa la información disponible acerca de la

manera en la que se llevan a cabo los procesos de reorganización del tallo cerebral relacionados con el nacimiento y la lactancia. Todavía es más escasa la información referente a las influencias perinatales del tipo de la mala nutrición, la estimulación sensorial y los xenobióticos, que provocan alteraciones en el ensamblaje y la función de esta delicada y complicada región del encéfalo.

Durante la ontogenia de la rata, el cierre del surco neural o neurulación, ocurre en un tiempo relativamente corto, que se extiende del día 7 al 9 de la gestación. La neurulación se inicia a nivel de la región del tubo neural que dará origen a la vesícula cerebral media o mesencéfalo. Asimismo, en la pared ventricular del rombencéfalo es donde se forma la mayor parte de los precursores neuronales que integrarán el tallo cerebral. Desde el punto de vista anatómico y funcional, ésta es una de las regiones del cerebro en la que con mayor claridad se expresa la heterocronía en el desarrollo neuronal. En efecto en el tallo cerebral durante sus etapas tempranas de desarrollo, se puede detectar la ocurrencia de una marcada neurogénesis precoz, que servirá de base para la formación de la mayoría de las estructuras y circuitos cerebrales que participan en el control de funciones que son esenciales para la vida del recién nacido.

El tallo cerebral es una de las regiones cuya maduración temprana permite la regulación de las funciones responsables de promover la supervivencia del feto dentro del útero materno. Por ejemplo la función cardiovascular, los ritmos de actividad motora y de la ingesta de líquido amniótico (Scheibel y col., 1973). No obstante su importancia, aún conocemos poco acerca de las condiciones microambientales, márgenes de operación de los procesos citogenéticos y de las restricciones que los estímulos del medio interno, imponen a la expresión genética para desencadenar y regular la violenta y vertiginosa organización temprana del substrato neural del tallo cerebral del organismo en desarrollo.

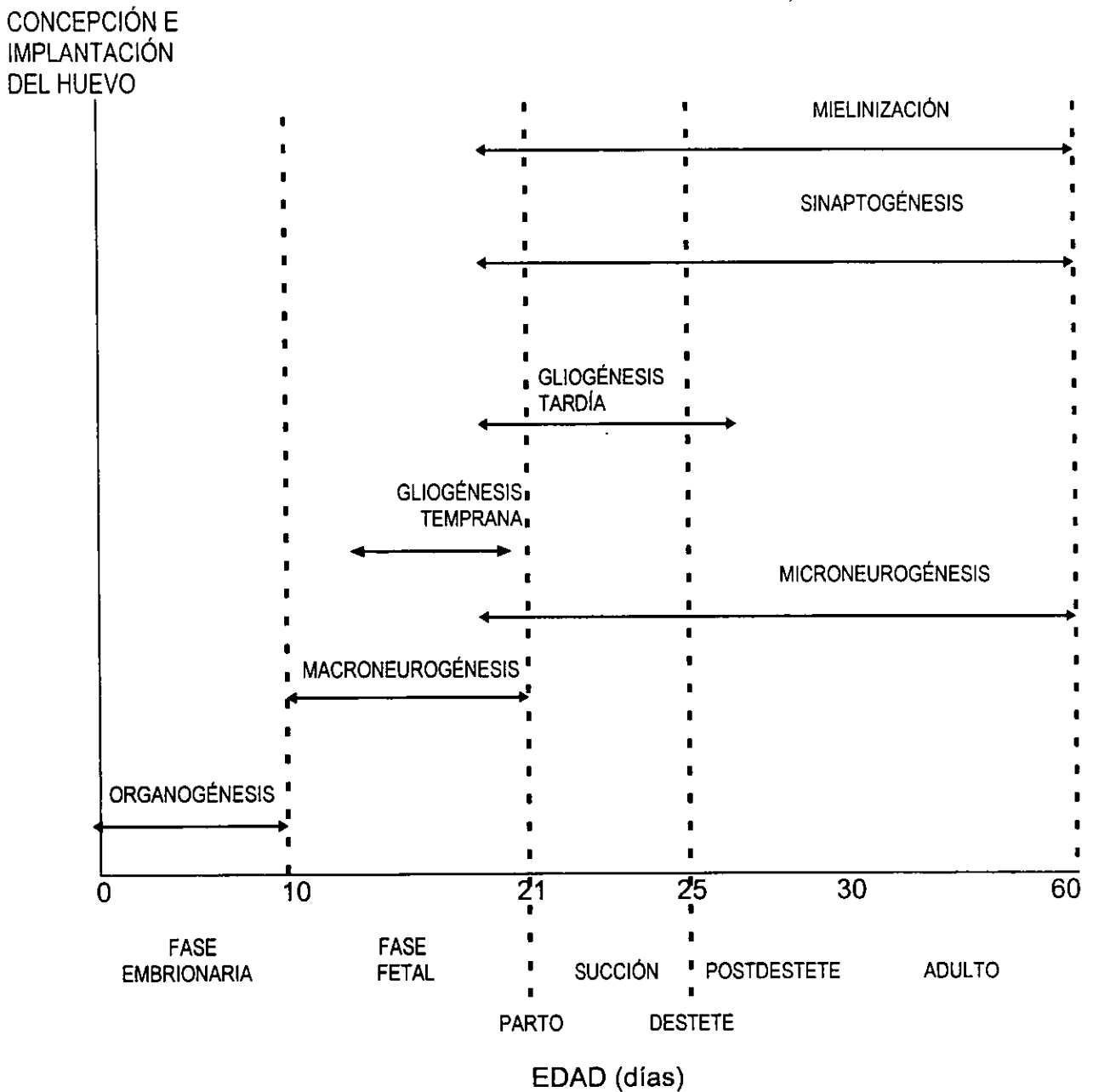


Fig. 1 Diferentes eventos del desarrollo del SNC en la rata y la edad en que éstos se presentan. Nótese, que los diferentes procesos del desarrollo del sistema nervioso, no ocurren sincrónicamente sino que se imbrican (flechas) a lo largo de la ontogenia.

## Plasticidad en el tallo cerebral

En el individuo adulto es escasa la información que se tiene acerca de que el tallo cerebral es una estructura de gran plasticidad, o bien si ésta sólo se presenta dentro de márgenes relativamente reducidos. Esta característica del funcionamiento neuronal del tallo cerebral, usualmente se relaciona con el rango de variación tan reducido que deben de tener aquellas funciones que gobiernan procesos esenciales para la vida del organismo. Sin embargo, este concepto quizás válido para el adulto, no parece ser el caso para el tallo cerebral de aquellos organismos inmaduros en los cuales la organización citoarquitectónica de sus diversos locus neuronales sufre notables cambios, particularmente durante la etapa perinatal. Así de diversos estudios realizados en mamíferos recién nacidos, se sabe que inicialmente ellos obtienen a través de la succión los nutrimentos y líquidos para su sustento (Friedman, 1975, Westneat y Hall, 1992). Conforme los animales maduran, el mecanismo neural del tallo cerebral pasa a complementar a respuestas reflejas más complejas que comprenden la masticación, la deglución y la ingesta de líquidos que son esenciales para la nutrición y el crecimiento del recién nacido. Esta transformación conductual de una respuesta consumatoria aparentemente simple en un mecanismo complejo, se da en el contexto de una notable maduración morfológica y funcional. Tal transformación constituye un gran reto ontogenético, ya que debe lograrse una continuidad en la habilidad para la obtención del alimento desde la succión hasta la masticación y la deglución (Herring, 1985; Hall, 1990; Epstein, 1984, 1986). Dentro de esta perspectiva la investigación morfológica y funcional, ha indicado que existen diferencias importantes en el control fisiológico de la succión temprana con respecto a la ingesta tardía de alimento (Hall y Williams, 1983; Wakerley y col., 1993; Wakerley y Drewtt, 1975). Asimismo, que los mecanismos neuromusculares de estos componentes de la conducta refleja alimentaria, deben de concurrir con notables cambios en la reorganización citoarquitectónica y funcional del tallo cerebral durante las primeras semanas de vida neonatal (Hammer y col., 1981; Hammer y Marthens, 1981).

A pesar de tenerse esta información, en el presente es mínimo el conocimiento que se tiene acerca de cómo la desnutrición perinatal interfiere con la organización citoarquitectónica y funcional del tallo cerebral en general

y del mecanismo que gobierna la succión, masticación y deglución, en particular. Asimismo, no se conoce de que manera la desnutrición perinatal afecta o modifica el establecimiento de los procesos plásticos, y a su vez cómo interacciona con otras variables perinatales que potencialmente pueden modificar la plasticidad cerebral como la estimulación sensorial y otras influencias epigenéticas (Ganchrow y col., 1986; Grunau y Graig, 1978).

## **EL NÚCLEO MOTOR DEL FACIAL (NF)**

### **Ubicación y organización general**

El núcleo motor del nervio facial, se ubica en el espesor de la protuberancia por dentro de la raíz descendente del trigémino, por detrás de las fibras del cuerpo trapezoide y del resto del cordón lateral, y rodeado dorsalmente y en sus contornos interno y externo por la sustancia gris central (Crosby y col., 1962). Las fibras del nervio facial se dirigen hacia la región dorsomedial, sobre el núcleo del nervio abductor rodeando la porción rostral del mismo. Enseguida, las fibras descienden por el borde lateral entre el núcleo motor del propio nervio y el núcleo del tracto espinal del nervio V, y emergen a través de las fibras del puente entre éste y la médula oblonga (Fig. 2). Las divisiones del nervio facial son aparentes principalmente en la porción rostrocaudal tomando como referencias interaurales los planos estereotáxicos -1.3 a - 2.3 mm de acuerdo con el atlas de Paxinos y Watson (1986). El NF está constituido aproximadamente por 3,400 a 5,800 neuronas multipolares que se clasifican en fusiformes, triangulares y estrelladas (Cajal, 1992), miden entre 15 a 65  $\mu\text{m}$  de diámetro. Las dendritas primarias se orientan en varias direcciones y su campo dendrítico se restringe a una división ramificándose primero en dirección rostrocaudal (Martin y Lodge, 1977). El NF contiene tres columnas celulares; la columna dorsal situada posteriormente, que se denomina núcleo dorsal y las columnas medial y lateral en donde las células se encuentran en mayor número. Entre las columnas así como en el espesor se encuentran numerosos haces longitudinales de sustancia blanca (Cajal, 1992).



y del mecanismo que gobierna la succión, masticación y deglución, en particular. Asimismo, no se conoce de que manera la desnutrición perinatal afecta o modifica el establecimiento de los procesos plásticos, y a su vez cómo interacciona con otras variables perinatales que potencialmente pueden modificar la plasticidad cerebral como la estimulación sensorial y otras influencias epigenéticas (Ganchrow y col., 1986; Grunau y Graig, 1978).

## **EL NÚCLEO MOTOR DEL FACIAL (NF)**

### **Ubicación y organización general**

El núcleo motor del nervio facial, se ubica en el espesor de la protuberancia por dentro de la raíz descendente del trigémino, por detrás de las fibras del cuerpo trapezoide y del resto del cordón lateral, y rodeado dorsalmente y en sus contornos interno y externo por la sustancia gris central (Crosby y col., 1962). Las fibras del nervio facial se dirigen hacia la región dorsomedial, sobre el núcleo del nervio abductor rodeando la porción rostral del mismo. Enseguida, las fibras descienden por el borde lateral entre el núcleo motor del propio nervio y el núcleo del tracto espinal del nervio V, y emergen a través de las fibras del puente entre éste y la médula oblonga (Fig. 2). Las divisiones del nervio facial son aparentes principalmente en la porción rostrocaudal tomando como referencias interaurales los planos estereotáxicos -1.3 a - 2.3 mm de acuerdo con el atlas de Paxinos y Watson (1986). El NF está constituido aproximadamente por 3,400 a 5,800 neuronas multipolares que se clasifican en fusiformes, triangulares y estrelladas (Cajal, 1992), miden entre 15 a 65  $\mu\text{m}$  de diámetro. Las dendritas primarias se orientan en varias direcciones y su campo dendrítico se restringe a una división ramificándose primero en dirección rostrocaudal (Martin y Lodge, 1977). El NF contiene tres columnas celulares; la columna dorsal situada posteriormente, que se denomina núcleo dorsal y las columnas medial y lateral en donde las células se encuentran en mayor número. Entre las columnas así como en el espesor se encuentran numerosos haces longitudinales de sustancia blanca (Cajal, 1992).

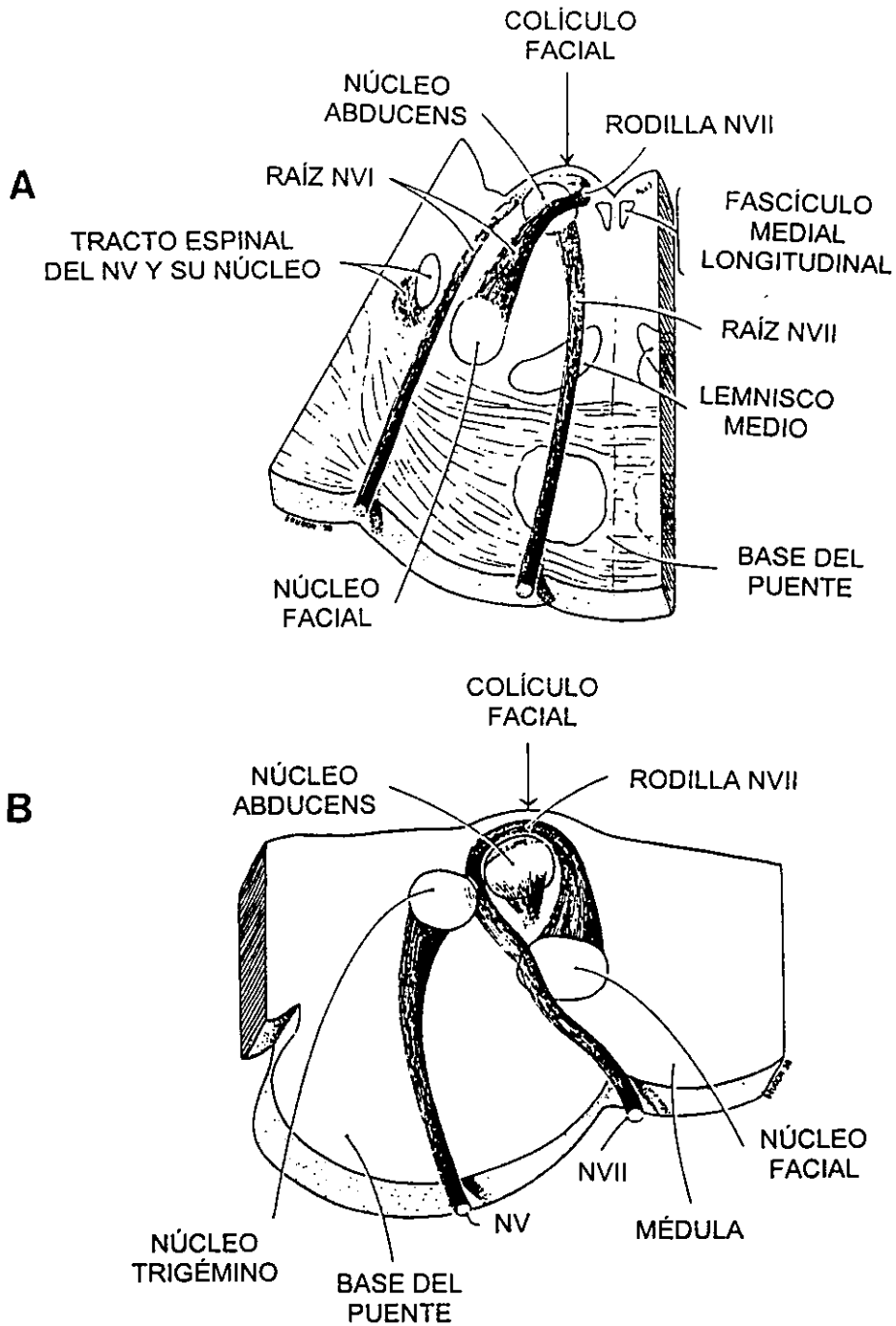


Fig. 2. Trayecto que sigue el nervio facial y su emergencia en el plano rostrocaudal entre el puente y la médula oblonga (A). En B, se muestra en detalle la trayectoria y las relaciones del NF con los núcleos cerebrales vecinos. Modificado de Crosby y col., 1962.

## Neurogénesis y migración

El desarrollo de los diferentes grupos de células del NF se lleva a cabo en forma heterocrónica. Esto es que primero se diferencian aquellas partes del NF que proyectan al músculo orbicular de los labios y posteriormente aquellas partes que inervan la porción frontal y orbitocigomática de la extremidad cefálica. El desarrollo precoz de estas neuronas, va a permitir los movimientos de los labios durante el reflejo de succión, ya que sus axones están mielinizados y los contactos con las fibras musculares están ya establecidos antes del parto (Anokhin, 1964).

El empleo de las técnicas de auto-radiografía ha mostrado que existen dos gradientes citogenéticos de migración uno rostrocaudal y otro medial-lateral. Durante la etapa de formación del núcleo del nervio facial, las neuronas de la porción rostral se generan en un 35% en el día gestacional 12 (G12). El 65% restante en el día G13. Por el contrario en la porción caudal del núcleo, el 87% de las neuronas se generan en el día G13, el 8% en el G14, aunque el 5% de las neuronas mantienen una intensa división en los días G14 y G15 (Fig. 3). El marcaje neuronal tardío que se observa entre los días G14 y G15, corresponde a las áreas lateral y lateroventral de la parte caudal del propio núcleo que contribuye a la ampliación transversal del mismo terminándose así la etapa de neurogénesis (Altman y Bayer, 1980).

El NF, se distingue por su origen tardío en cuanto a los picos de neurogénesis entre los días G12 a G15 de la gestación, lo cual sugiere que sus primeras neuronas van a dar la inervación a los músculos somáticos de la lengua y músculos rectos laterales que se originan antes que las neuronas motoras que dan la inervación de los músculos branquiales (Fig. 3). En general los picos de neurogénesis del tallo cerebral, corresponden a la segregación o acúmulo neuronal en los núcleos motores de los músculos somáticos que son los primeros en generarse, mientras que el substrato del sistema sensorial trigeminal que recoge la sensibilidad del área de la cara es el último en desarrollarse (Fig. 3). Los núcleos motores branquiales del facial, del rafé magno y de la formación reticular parecen ocupar una posición intermedia (Altman y Bayer, 1980) (Fig. 3).

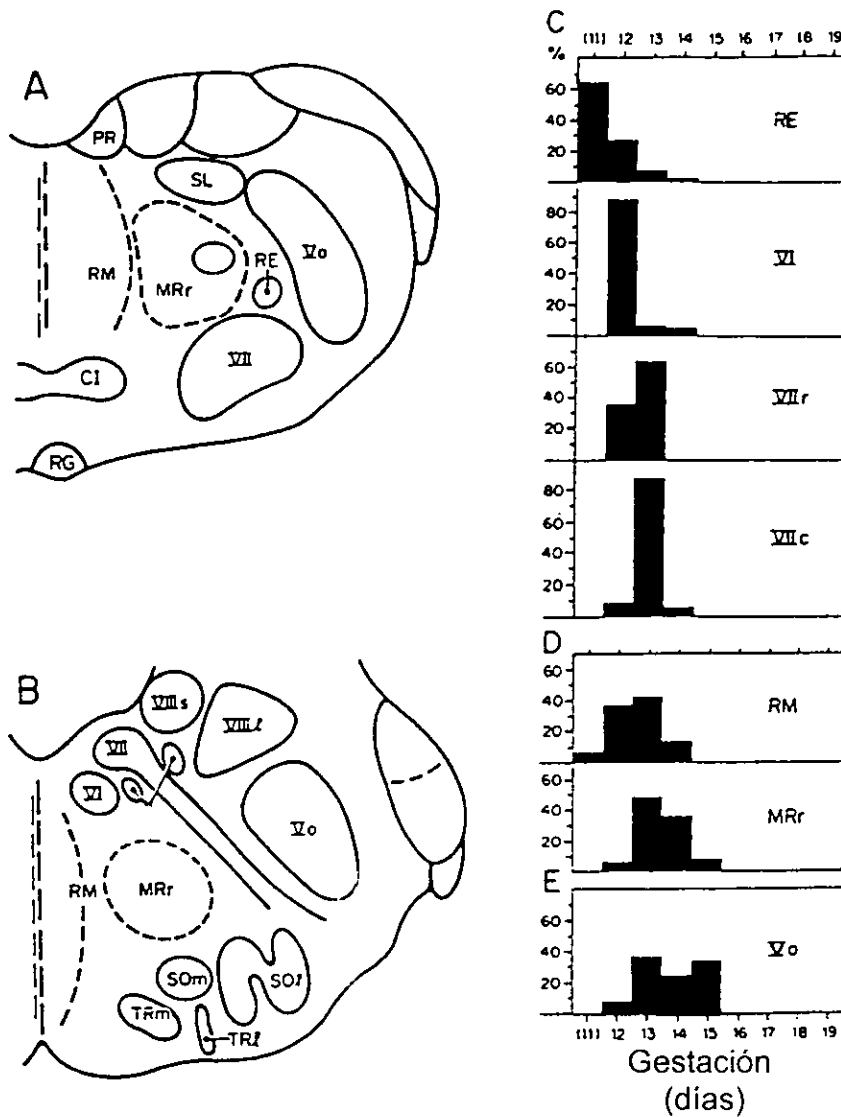


Fig. 3. Hemisecciones A, rostral y B, caudal. Datos cuantitativos de la neurogénesis de los núcleos RE, retrofacial; VI, abducens; VIIr y VIIc, facial rostral y caudal; MRr, formación reticular medular rostral; RM, rafé magnus; Vo, Oralís del complejo trigémino; VIII, vestibular; PR, hipogloso; SL, solitario; CI, rafé central inferior; FG, capa granular del rafé; SO, oliva superior, TR, cuerpo trapezoide. (Modificado de Altman y Bayer, 1980).

## Microambiente neuronal del NF

Los núcleos del tallo cerebral con excepción del núcleo rojo y el NF, se encuentran inmersos en una matriz de neuronas pequeñas y fibras nerviosas, que en su conjunto forman lo que se denomina formación reticular. Este hecho nos muestra que el NF, tiene amplias posibilidades para establecer contactos sinápticos con el resto de los acúmulos neuronales capaces de conectarse y ser parte importante de circuitos que modulan respuestas dirigidas hacia el medio interno.

De acuerdo a Brodal (1957), el término formación reticular comúnmente se emplea para definir una agregación de neuronas de distintos tipos y tamaños, que se encuentran separadas por numerosas fibras que viajan en todas direcciones con la apariencia de un retículo o red. Los árboles dendríticos de las neuronas que forman los núcleos específicos de la formación reticular, se pueden clasificar en 3 tipos, isodendrítico constituido por ramas dendríticas de trayectoria relativamente recta y radiada que se sobreponen ampliamente con las ramas de otras neuronas (Ramón-Moliner y Nauta, 1966). Dentro de este grupo isodendrítico, se incluye el leptodendrítico, formado por dendritas escasas, aunque relativamente largas que emergen de somas cónicas o fusiformes, ubicados en las regiones periventriculares del tallo cerebral del tipo del NF, que a lo largo de la filogenia han mostrado tener pocos cambios en su citoarquitectura (Ramón-Moliner, 1970). Los árboles dendríticos de tipo alodendríticos e idiodendríticos que complementan la clasificación, forman parte de neuronas especializadas en las que las dendritas siguen una trayectoria con una dirección preferencial ondulada, o bien que culminan en un penacho como es el caso de la corteza, el bulbo olfatorio o del hipocampo. Desde un punto de vista funcional el árbol dendrítico de tipo isodendrítico, recibe un sistema de proyección difuso dentro del tallo cerebral, mientras que los otros tipos dendríticos se conectan con sistemas de mayor grado de compactación de fibras aferentes. De una manera curiosa las neuronas del locus coeruleus, del rafé, los núcleos intralaminares del tálamo, el área septal y el cerebro anterior basal que participan en la modulación de los estados de conciencia, tienen un patrón de distribución isodendrítico posiblemente relacionado con el manejo de patrones de información ascendente similares (Ramón-Moliner, 1970). El carácter leptodendrítico de los

árboles dendríticos de las neuronas del NF, le permitiría recibir información de tipo difuso, tanto de porciones cercanas como de las alejadas del propio locus neuronal, lo cual sugiere la persistencia en el NF de un patrón de organización estructural primitivo (Jacobson, 1978), que ha sido exitoso para los fines de la succión y de actividades afines. Por otro lado, el hecho de recibir aferencias difusas, aseguraría que la activación del locus neuronal del NF, podría darse tanto por las aferencias sensoriales del mundo exterior como por las provenientes del medio interno, lo cual lo haría extremadamente plástico.

### **Aferencias y proyecciones del NF**

El NF tiene 3 subdivisiones, cada una de ellas recibe aferencias de distintas regiones. Estudios anatómicos previos han mostrado con trazadores retrógrados como la peroxidasa de rábano (HRP), las fibras aferentes al NF por medio de inyección del trazador en las distintas divisiones. Cuando se aplicó la inyección en la región dorsal de la porción intermedia, las neuronas marcadas se encontraron en la porción dorsal del núcleo rojo contralateral del cerebro medio y escasas en la formación reticular, en el núcleo de Kölliker-Fuse del puente y en la porción ventrolateral del núcleo parabraquial y extendidas caudalmente en las regiones supratrigeminal e intrageminal y la médula. Las neuronas pontinas fueron predominantemente ipsilaterales. Otra vía de entrada de información es bilateral a partir del núcleo trigémino principal sensorial, aunque las neuronas marcadas fueron escasas (Fig. 4). Al inyectar la HRP en la división lateral del NF, la mayoría de las neuronas se encuentran en la formación reticular del cerebro medio, desde la zona contralateral paralemniscal, en la región centrolateral seguida de las regiones medial y lateral. La mayoría de las células marcadas en la formación reticular caudal que proyectan a la porción medial se encontraron ventralmente en el NF, en tanto que las de la región dorsal proyectan a las divisiones laterales del NF (Travers y Norgren, 1993). Por último las aferentes se han clasificado en 2 tipos, las aferentes ascendentes que se originan en la médula cervical (Tanaka y col., 1978) y se distribuyen principalmente en la porción medial del núcleo y las fibras aferentes descendentes que se originan en el colículo superior, el núcleo rojo y el tegmento mesencefálico (Courville, 1966; Edwards,

1972) y se conectan ampliamente con el núcleo en distintos niveles del mismo (Fig. 4).

El nervio facial, tiene como función inervar la cara, siendo una de las estructuras más conspicuas del tallo cerebral que consta de dos raíces, la principal o motriz, la porción sensitiva conocida también como nervio intermediario de Wrisberg (Cajal, 1992) la cual contiene componentes parasimpáticos. Está formado por varias ramas, de fibras mielínicas y amielínicas. El nervio facial emerge del tallo cerebral en la parte ventrolateral y caudal al puente, adyacente al surco protuberancial. La región medial proyecta sus fibras hacia la región auricular y el músculo estapedio, la intermedia hacia las regiones temporal y orbitocigomática y la lateral hacia los músculos orbiculares de los labios superior e inferior (Fig. 5).

La maduración embrionaria y fetal ocurre a mayor velocidad y de manera selectiva en las estructuras cerebrales de mayor importancia para la sobrevivencia del organismo, por ejemplo la obtención de alimento. Este hecho es congruente con una regla general que establece que hay una programación en el desarrollo de los diversos sistemas orgánicos vitales en el recién nacido para propiciar su perpetuación en la naturaleza.

El NF es una estructura, que antes del parto muestra una notoria desproporción en el grado de desarrollo de sus fibras. Las fibras, que proyectan al músculo orbicularis oris que generan los movimientos más importantes para la succión, están ya mielinizadas y los contactos con las fibras musculares están ya establecidos. Al mismo tiempo otros músculos faciales presentan una marcada organización de fibras y sinapsis (Golubeva, 1961). Los componentes del NF relacionados con la succión están completamente diferenciados, por el contrario, las neuronas que dan origen a las ramas frontales del NF, apenas comienzan a diferenciarse (Anokhin, 1964).

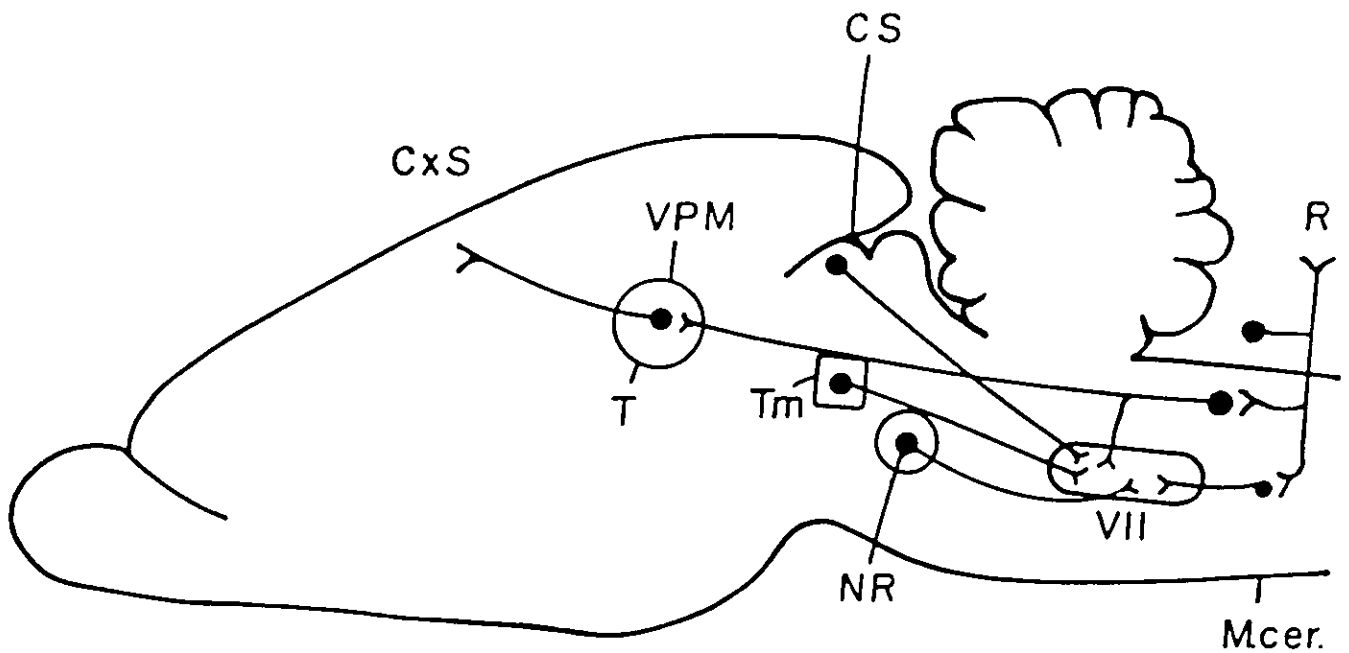


Fig. 4. Aferencias al núcleo motor del nervio VII de la rata, M, cer, médula cervical; NR, núcleo rojo; Tm, tegmento mesencefálico; T, tálamo; VPM, núcleo ventral posteromedial; CxS, corteza somestésica; CS, colículo superior; R, receptores periféricos.



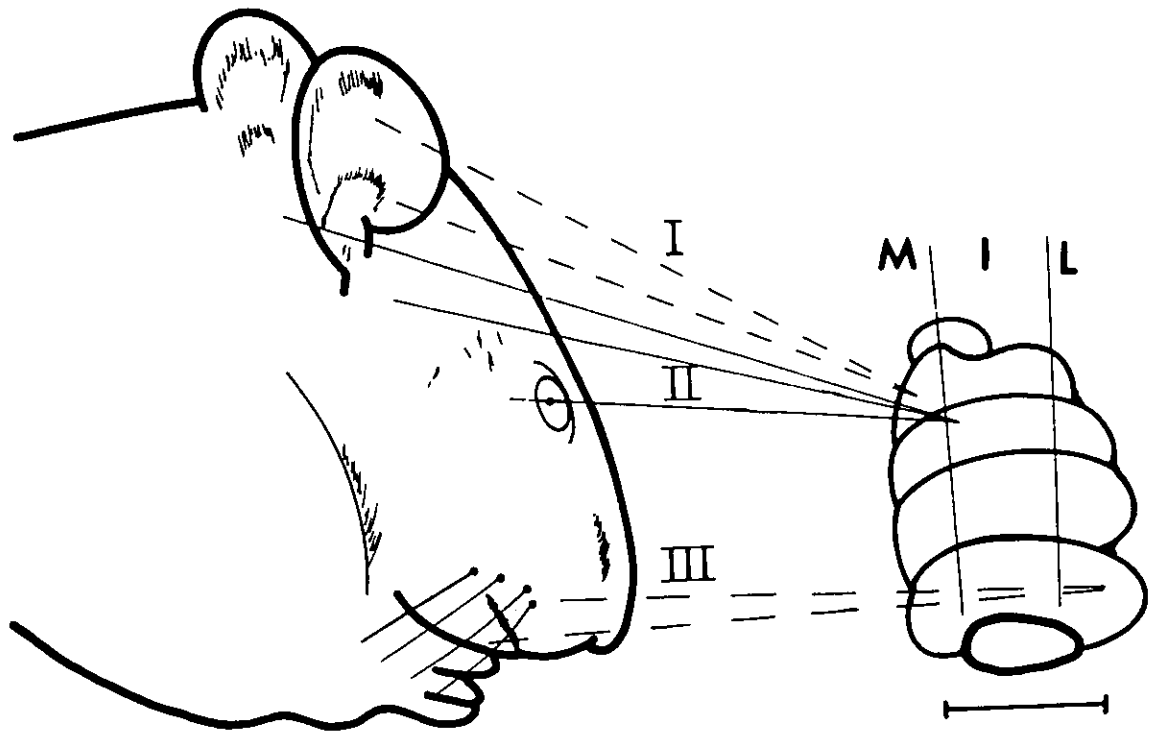


Fig. 5. Regiones que inerva el nervio motor del facial en la rata; I, proyecciones hacia la región auricular y músculo estapedio; II, proyecciones hacia las áreas temporal y orbitocigomática; III, aferentes hacia las porciones superior e inferior de la región bucolabial. Núcleo del séptimo par con sus divisiones M, medial, I, intermedia y lateral (L), que contiene las neuronas de las cuales surge el nervio motor del facial. Calibración 1,000  $\mu$ m.

## Neurotransmisores y neuromoduladores

En el NF se han identificado terminales colinérgicas (Davidoff e Irintchev, 1986; Rasmussen y Aghajanian, 1990), una fuente de estas aferencias colinérgicas son las células de la Md (médula dorsal reticular) (lateral al XII par y ventral al núcleo del tracto solitario). Se han encontrado proyecciones conteniendo substancia P, a las divisiones intermedia y dorsolateral provenientes de la formación reticular (Senba y Tohyama, 1983b). Otra fuente de proyecciones de substancia P incluye la formación reticular medular y los núcleos rafé pálido y oscuro. Las neuronas identificadas en estas regiones, contienen substancia P y serotonina (5-HT) y proyectan principalmente a la región ventral del NF (Fort y col., 1989).

La aplicación de serotonina resulta en un aumento en la excitabilidad de las motoneuronas, posiblemente a través de receptores 5-HT. Los efectos excitatorios de la serotonina han sido bien caracterizados en las proyecciones de los núcleos del rafé al NF motor. Aghajanian y McCall (1980) encontraron que la serotonina activa receptores lo cual da como resultado el cierre de canales de  $K^+$  que producen una hiperpolarización de estas neuronas. La 5-HT tiene acciones similares en las neuronas piramidales de la corteza cerebral. La 5-HT actúa además en otros receptores y puede inhibir descargas neuronales. En el hipocampo la serotonina causa inhibición por medio de la apertura de canales de  $K^+$  produciendo hiperpolarización de las neuronas y actúa de manera similar en la corteza cerebral y el neocórtex. La formación reticular medular es además fuente de proyecciones que liberan encefalinas principalmente a la región ventral del NF (Finley y col., 1981; Senba y Tohyama, 1983a, b; Fort y col., 1989). Estas proyecciones contienen además 5-HT. Se han identificado fibras serotoninérgicas concentradas en la subdivisión ventrolateral del NF (Aghajanian y McCall, 1980; Aghajanian y Vandermaelen, 1980; Fort y col., 1989; Palkovits y col., 1973; Steinbusch, 1981). Las fuentes colinérgicas parecen ser los núcleos rafé oscuro y pálido (Senba y Tohyama, 1983a; Fort y col., 1989).

La acetilcolina es el principal neurotransmisor de la unión neuromuscular, siendo todas las conexiones excitadoras en las fibras musculares reguladas por la acetilcolina. La unión neuromuscular es altamente

efectiva ya que, cada potencial sináptico invariablemente produce un potencial de acción propagado.

## **REFLEJO DE SUCCIÓN Y SUS COMPONENTES**

En los últimos años se ha tenido un gran avance en el conocimiento de los componentes conductuales que integran el reflejo de succión en la rata (Teicher y Blass, 1977; Brake y col., 1988; Drewett, y col., 1974). De estos estudios, se sabe que el reflejo de succión se inicia con la fijación de la cría al pezón materno por medio de la boca; esta fijación es facilitada por la postura en forma de campana que adquiere el tórax y el abdomen materno al arquear la madre su dorso. Asimismo, por la atracción de la cría hacia la región periglandular motivada por la liberación de feromonas de la piel del vientre de la madre, como por la saliva del recién nacido que impregna los pezones maternos (MacFarlane y col., 1983). Una vez ocurrida la fijación al pezón, la cría inicia una actividad rítmica de succión que tiene una frecuencia entre 0.5 y 1.0 Hz y que no sufre incrementos en su frecuencia con la edad. El tercer componente del reflejo de succión es la respuesta consumatoria de estiramiento del cuerpo de la cría, que se presenta cuando la leche es liberada de la glándula y pasa al tracto digestivo del producto. Cada uno de estos componentes difiere ampliamente de la ingesta de alimento que se observa en el adulto, y de los mecanismos neurales de su control bajo condiciones complejas en las que participan influencias olfatorias, los estados de conciencia, el estado nutricional del sujeto, el grado de hidratación y el nivel de plenitud que se mantenga en el estomago de la cría (Westneat y Hall, 1992). Durante la expresión de los distintos componentes de la succión participan de manera activa los músculos masetero superficial, el digástrico anterior, el esternohioideo, el geniogloso, el temporal y el orbicular de los labios. La succión en la rata recién nacida de manera intensa se extiende desde el día del nacimiento hasta aproximadamente el día 12 de edad, cuando es gradualmente reemplazada por el reflejo de masticación, al iniciarse el destete progresivo por la incorporación de otros componentes de la dieta (Westneat y Hall, 1992).

## DESNUTRICIÓN Y DESARROLLO NEURONAL

Es bien conocido que la desnutrición perinatal trastorna tanto el desarrollo físico, como la función cerebral. Así las crías provenientes de madres desnutridas, invariablemente presentan reducción de peso y talla, alteraciones en diversas mediciones corporales, deterioro de las características físicas del pelo, retardo en la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados y cuadros frecuentes de diarrea o de infección respiratoria asociados a una mortalidad superior al 10% (Winick, 1979; Salas y col., 1995; Gressens y col., 1997).

Diversos estudios han mostrado que la desnutrición perinatal provoca efectos significativos sobre la organización citoarquitectónica de algunos núcleos del tallo cerebral. De este modo se sabe que las neuronas de los núcleos reticulares dorsales de la rata desnutrida muestran, aumento en las varicosidades dendríticas en los segmentos proximales (Hammer y col., 1981; Hammer y Marthens, 1981). En otro estudio realizado sobre neuronas del núcleo locus coeruleus en ratas desnutridas prenatalmente, pudo detectarse una importante reducción de las espinas dendríticas (Díaz-Cintra y col., 1984; Díaz-Cintra y col., 1981a, b), y también empleando el modelo de la desnutrición neonatal por separación de las crías de la madre y el nido, se ha reportado una reducción en el crecimiento de los árboles dendríticos de neuronas del NF, del complejo olivar superior y del núcleo reticular tálmico de la rata (Salas y col., 1986; Torrero y col., 1993, 1999; Salas y col., 1994).

El deterioro en el crecimiento físico de las crías asociado a la desnutrición, se acompaña de un retardo marcado en el desarrollo de la actividad refleja como lo muestra el retraso en la respuesta de enderezamiento, la habilidad para trepar o para descender por una cuerda (Altman y col., 1971), retardo en la capacidad para erguir la cabeza fuera del agua y en mantener los miembros anteriores en hiperextensión durante las pruebas de nado, y el desarrollo de los componentes de la conducta de autoaseo y de la marcha (Salas, 1972; Salas y col., 1991; Gramsberger y Westerga, 1992). Desde el punto de vista electrofisiológico, los animales desnutridos durante el período neonatal presentan un retardo en la aparición, alargamiento en las latencias y reducción de la amplitud de los potenciales

primarios provocados por la aplicación de estímulos visuales (Callison y Spencer, 1968), o de estímulos eléctricos aplicados al nervio ciático contralateral (Salas y Cintra, 1973). Por otra parte, la superposición de varias respuestas electrofisiológicas corticales somestésicas provocadas por la estimulación eléctrica del nervio ciático contralateral, indica que los componentes tardíos del potencial provocado asociados con el desarrollo del sistema inespecífico, son los que más se trastornan por la privación neonatal de alimento (Salas y Cintra 1973; Forbes y col., 1975). El electrocorticograma de las ratas desnutridas durante el período neonatal, muestra un incremento en las frecuencias lentas que es más consistente en el área temporal de la neocorteza, cuando se le compara con los de la región frontal o la occipital (Salas y Cintra, 1975). Asimismo, la actividad electroencefalográfica registrada durante los ciclos de sueño y vigilia muestra que estos últimos se alteran en su desarrollo, ya que su número en el curso de 12 h continuas de registro se reduce, las fases del sueño de MOR también son escasas y se incrementa la fase de vigilia (Salas y col., 1983; Cintra y col., 1988).

En relación con la desnutrición perinatal las alteraciones funcionales mencionadas, van asociadas a una acumulación neuronal periventricular debida a la reducción en la migración hacia los sitios en donde las neuronas se conectan y funcionan de manera definitiva, al deterioro en el crecimiento del árbol dendrítico (ramas y espinas), a la reducción en el número de axones aferentes a la corteza sensorial y en el grosor de estructuras laminadas de diferentes regiones del SNC como la neocorteza, el cerebelo, el claustrum, el hipocampo o a la organización neuronal de la amígdala, el tálamo y el complejo olivar superior entre otros (Bass y col., 1970; Cragg, 1972; Salas y col., 1974; Lewis y col., 1975; Sharma y col., 1987; García-Ruiz y col., 1993; Díaz-Cintra y col., 1994; Escobar y Salas, 1993, 1995; Andrade y col., 1996; Cintra y col., 1997).

La desnutrición neonatal en la rata produce reducción en la síntesis de la mielina y de acuerdo a diversos estudios , dicha reducción no se revierte aún con una nutrición adecuada y persiste a largo plazo en el cerebro de la rata expuesta a la desnutrición en etapas tempranas del desarrollo. Sin embargo, el número de oligodendrocitos no sufre variaciones importantes, sólo en las condiciones más extremas de desnutrición, el número de fibras

mielinizadas se encuentra por abajo del valor normal lo cual sugiere que no existe una interacción adecuada entre los axones y la oligodendroglía para la mielinización de los nervios (Royland y col., 1992).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se conoce que el sujeto desnutrido presenta muchas de las características del organismo prematuro, que pudieran relacionarse con un estado de franco retardo en el crecimiento intrauterino. Las alteraciones que presenta el organismo desnutrido con relación a la vigorosidad para succionar (Brake, 1988), las consideramos de especial interés por jugar un papel importante en la alimentación del recién nacido. Consideramos importante conocer, qué cambios morfológicos produce la desnutrición en las neuronas del NF de ratas provenientes de hembras gestantes expuestas a disminución del alimento desde edades tempranas del desarrollo. En este estudio, se caracterizaron los cambios morfológicos de neuronas del NF de la rata desnutrida y desnutrida con restitución de alimento durante la etapa perinatal.

## **HIPÓTESIS**

Se propone que las alteraciones en el reflejo de la succión provocadas por la desnutrición perinatal en la rata, están asociadas a posibles alteraciones en el desarrollo neuronal del NF. Asimismo, que la restitución de alimento pueda revertirlas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar las alteraciones en el desarrollo de la organización morfológica de las neuronas del NF involucradas en la regulación de funciones esenciales para el recién nacido.

mielinizadas se encuentra por abajo del valor normal lo cual sugiere que no existe una interacción adecuada entre los axones y la oligodendroglía para la mielinización de los nervios (Royland y col., 1992).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se conoce que el sujeto desnutrido presenta muchas de las características del organismo prematuro, que pudieran relacionarse con un estado de franco retardo en el crecimiento intrauterino. Las alteraciones que presenta el organismo desnutrido con relación a la vigorosidad para succionar (Brake, 1988), las consideramos de especial interés por jugar un papel importante en la alimentación del recién nacido. Consideramos importante conocer, qué cambios morfológicos produce la desnutrición en las neuronas del NF de ratas provenientes de hembras gestantes expuestas a disminución del alimento desde edades tempranas del desarrollo. En este estudio, se caracterizaron los cambios morfológicos de neuronas del NF de la rata desnutrida y desnutrida con restitución de alimento durante la etapa perinatal.

## **HIPÓTESIS**

Se propone que las alteraciones en el reflejo de la succión provocadas por la desnutrición perinatal en la rata, están asociadas a posibles alteraciones en el desarrollo neuronal del NF. Asimismo, que la restitución de alimento pueda revertirlas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar las alteraciones en el desarrollo de la organización morfológica de las neuronas del NF involucradas en la regulación de funciones esenciales para el recién nacido.

mielinizadas se encuentra por abajo del valor normal lo cual sugiere que no existe una interacción adecuada entre los axones y la oligodendroglía para la mielinización de los nervios (Royland y col., 1992).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se conoce que el sujeto desnutrido presenta muchas de las características del organismo prematuro, que pudieran relacionarse con un estado de franco retardo en el crecimiento intrauterino. Las alteraciones que presenta el organismo desnutrido con relación a la vigorosidad para succionar (Brake, 1988), las consideramos de especial interés por jugar un papel importante en la alimentación del recién nacido. Consideramos importante conocer, qué cambios morfológicos produce la desnutrición en las neuronas del NF de ratas provenientes de hembras gestantes expuestas a disminución del alimento desde edades tempranas del desarrollo. En este estudio, se caracterizaron los cambios morfológicos de neuronas del NF de la rata desnutrida y desnutrida con restitución de alimento durante la etapa perinatal.

## **HIPÓTESIS**

Se propone que las alteraciones en el reflejo de la succión provocadas por la desnutrición perinatal en la rata, están asociadas a posibles alteraciones en el desarrollo neuronal del NF. Asimismo, que la restitución de alimento pueda revertirlas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar las alteraciones en el desarrollo de la organización morfológica de las neuronas del NF involucradas en la regulación de funciones esenciales para el recién nacido.



mielinizadas se encuentra por abajo del valor normal lo cual sugiere que no existe una interacción adecuada entre los axones y la oligodendroglía para la mielinización de los nervios (Royland y col., 1992).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se conoce que el sujeto desnutrido presenta muchas de las características del organismo prematuro, que pudieran relacionarse con un estado de franco retardo en el crecimiento intrauterino. Las alteraciones que presenta el organismo desnutrido con relación a la vigorosidad para succionar (Brake, 1988), las consideramos de especial interés por jugar un papel importante en la alimentación del recién nacido. Consideramos importante conocer, qué cambios morfológicos produce la desnutrición en las neuronas del NF de ratas provenientes de hembras gestantes expuestas a disminución del alimento desde edades tempranas del desarrollo. En este estudio, se caracterizaron los cambios morfológicos de neuronas del NF de la rata desnutrida y desnutrida con restitución de alimento durante la etapa perinatal.

## **HIPÓTESIS**

Se propone que las alteraciones en el reflejo de la succión provocadas por la desnutrición perinatal en la rata, están asociadas a posibles alteraciones en el desarrollo neuronal del NF. Asimismo, que la restitución de alimento pueda revertirlas.

## **OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar las alteraciones en el desarrollo de la organización morfológica de las neuronas del NF involucradas en la regulación de funciones esenciales para el recién nacido.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Caracterizar el desarrollo del árbol dendrítico y del soma de neuronas obtenidas del núcleo motor del nervio facial, en ratas controles y desnutridas durante el período perinatal a los 12, 20 y 30 días de edad.
- 2.- Identificar en que edades, se presentan las mayores alteraciones en el crecimiento de las neuronas del núcleo del facial y correlacionar la magnitud del impacto en las diferentes condiciones de nutrición.
- 3.- Caracterizar el desarrollo de las neuronas del núcleo motor del nervio facial con el incremento en la edad, e identificar si existen diferencias en el patrón de crecimiento debidas a las influencias relacionadas con la nutrición.
- 4.- Conocer si las posibles alteraciones morfológicas de las neuronas del NF, se atenúan por medio de la restitución nutricional postnatal, en las 3 edades que comprende el estudio.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales

Para el presente estudio se emplearon crías macho de 12, 20 y 30 días de edad, provenientes de hembras gestantes normales y desnutridas de la variedad Wistar (*Rattus norvegicus*) criadas en el bioterio del Centro de Neurobiología, UNAM. Para la obtención de estas crías, se cruzaron cinco grupos de dos machos y cinco hembras adultas con un peso corporal entre 250 a 300 g en una caja de plástico transparente (50X40X20 cm). Los animales se mantuvieron bajo condiciones de temperatura controlada a  $23^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , con ciclos de luz/oscuridad 12/12 h (luces encendidas a las 0007 h) agua y alimento (chow de Purina) *ad libitum*. Con el propósito de precisar la fecha de inicio de la gestación, se realizaron cada mañana frotis vaginales, durante una semana. El día que se detectó esperma en el frotis se consideró como el día cero de la gestación (G0).

## OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.- Caracterizar el desarrollo del árbol dendrítico y del soma de neuronas obtenidas del núcleo motor del nervio facial, en ratas controles y desnutridas durante el periodo perinatal a los 12, 20 y 30 días de edad.
- 2.- Identificar en que edades, se presentan las mayores alteraciones en el crecimiento de las neuronas del núcleo del facial y correlacionar la magnitud del impacto en las diferentes condiciones de nutrición.
- 3.- Caracterizar el desarrollo de las neuronas del núcleo motor del nervio facial con el incremento en la edad, e identificar si existen diferencias en el patrón de crecimiento debidas a las influencias relacionadas con la nutrición.
- 4.- Conocer si las posibles alteraciones morfológicas de las neuronas del NF, se atenúan por medio de la restitución nutricional postnatal, en las 3 edades que comprende el estudio.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales

Para el presente estudio se emplearon crías macho de 12, 20 y 30 días de edad, provenientes de hembras gestantes normales y desnutridas de la variedad Wistar (*Rattus norvegicus*) criadas en el bioterio del Centro de Neurobiología, UNAM. Para la obtención de estas crías, se cruzaron cinco grupos de dos machos y cinco hembras adultas con un peso corporal entre 250 a 300 g en una caja de plástico transparente (50X40X20 cm). Los animales se mantuvieron bajo condiciones de temperatura controlada a  $23^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , con ciclos de luz/oscuridad 12/12 h (luces encendidas a las 0007 h) agua y alimento (chow de Purina) *ad libitum*. Con el propósito de precisar la fecha de inicio de la gestación, se realizaron cada mañana frotis vaginales, durante una semana. El día que se detectó esperma en el frotis se consideró como el día cero de la gestación (G0).

## **Procedimiento de desnutrición y restitución nutricional**

La desnutrición pluricarencial se logró mediante la reducción del 50% de la dieta (chow de Purina) a ratas gestantes desde el día G6 hasta G12. A partir de G13 se les proporcionó el 60% de la misma dieta normal hasta el día del nacimiento (G21). Desde el primer día postnatal (P1) y hasta el día P23, las crías provenientes de estas madres desnutridas se mantuvieron durante 12 h con una madre ligada de sus conductos galactóforos, y las otras 12 h se les colocó con una madre control (Grupo D). Este procedimiento, minimiza importantemente las deficiencias en las interacciones madre crías que acompañan a otros paradigmas de desnutrición (Lynch, 1976). El grupo control (C), se obtuvo de hembras gestantes alimentadas *ad libitum* con agua y dieta normal (chow de Purina) durante la gestación y después de ella.

La restitución nutricional (R) se realizó sustituyendo en el día del parto a la madre desnutrida, por un par de madres nodrizas normales e intercambiándolas cada 12 h entre una camada y otra del día 1 al 23 postparto (ver Diagrama 1).

## **Procedimiento de ligadura de conductos galactóforos postparto**

La desnutrición neonatal de las crías desnutridas durante el período prenatal, se continuó sometiendo a los recién nacidos desnutridos a un régimen de succión parcial, mediante el intercambio cada 12 h (0800 y 2000 h) de 2 madres lactantes, una de las cuales tenía ligados sus conductos galactóforos.

Para realizar la ligadura se anestesió con eter anestésico (Droguería Cosmopolita) a una madre lactante, colocándola en decúbito dorsal y sujetándola por sus 4 extremidades en una tabla de madera (25x15x1.5 cm). Mediante una pequeña incisión (3mm) con tijera fina en la base de cada uno de los 12 pezones, se introdujo alrededor del conducto galactóforo central una aguja curva e hilo de seda (000 de grosor), anudándose en cada caso el conducto galactóforo correspondiente y así evitando la expulsión láctea durante la succión de las crías (Lynch, 1976). Anudado el conducto galactóforo, se suturó la herida mediante puntos separados y se limpió la

herida con algodón humedecido en suero fisiológico. Como medida preventiva se inyectó en 3 ocasiones (cada 12 h) por vía I. M. 200,000 U. I. de Penicilina Cristalina (Laboratorios Lakeside, S. A.), para evitar algún foco de infección. En el caso del grupo control una de las madres lactantes de cada par, se le sometió a la misma rutina de anestesia de eter, realizando una pequeña incisión en la base de cada pezón pero sin atar el conducto galactóforo, cerrando la herida como en el caso de las madres ligadas.

### **Medición del desarrollo físico**

El impacto provocado por la desnutrición sobre el desarrollo físico de las crías en las 3 condiciones de nutrición, se evaluó mediante el registro de los pesos corporales y cerebrales en un grupo independiente (n=10/grupo) cada 5 días y en el día del sacrificio (días postnatales 12, 20 y 30). Asimismo, entre los 8 y los 18 días postnatales se registró la edad en la que ocurrió la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados. Para la cuantificación de la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados se empleó una escala de valores relativos, dando un valor de 1 cuando éstos estuvieron cerrados; 2, cuando estuvieron abiertos en un 50% y 3 cuando la apertura fue total.

### **Procedimientos histológicos**

Las crías macho de cada condición y edad de los grupos C, D y R (n=6) se pesaron y anestesiaron con éter etílico y se decapitaron. Enseguida, los cerebros se extrajeron, se pesaron y cortaron en 3 a 4 bloques coronales los cuales se sumergieron en la solución de Golgi-Cox para su impregnación (Ramón-Moliner, 1970). Tres semanas después, los bloques se deshidrataron e incluyeron gradualmente en nitrocelulosa con cambios cada 24 h, iniciando con una concentración baja (5%, 15%, 20% y 30% consecutivamente). Posteriormente, se realizaron cortes transversales seriados de aproximadamente 120  $\mu$ m del tallo cerebral entre los planos de bregma -10.30 y -11.60 mm, del encéfalo. Las preparaciones se rotularon codificándolas de acuerdo a la condición y edad mediante el empleo de la tabla de números al

azar. Las estructuras cerebrales se identificaron con base en el atlas de Paxinos y Watson (1986) y el atlas de Sherwood y Timiras (1970). El muestreo neuronal se realizó a ciegas, ya que el observador no conoció a que grupo experimental pertenecieron las preparaciones, pues sólo tuvo acceso a los códigos de la rotulación de las mismas.

### **Análisis morfométrico**

Se emplearon 6 animales de cada uno de los grupos, C, D y R de 12, 20 y 30 días postparto con el propósito de caracterizar el daño neuronal y los efectos provocados por la restitución de alimento. Una vez identificado el NF se midieron 30 neuronas de cada tipo, 90 por edad, 270 por condición. Lo que dió un total de 810 neuronas. Solamente se seleccionaron aquellas neuronas cuyo campo dendrítico pareciera completo y bien impregnado.

En el presente estudio, utilizando un programa de análisis de imágenes (Perception Analysis System) se midieron los parámetros de los tres tipos de neuronas (fusiformes, triangulares y estrelladas) que constituyen el núcleo del NF; 1) árbol: el número de dendritas clasificadas en 1<sup>er</sup>, 2o, 3er, 4o y 5o órdenes y la extensión dendrítica mediante el empleo del método de círculos concéntricos (Sholl, 1956) (1 a 8 círculos, con una separación entre ellos de 40  $\mu$ m); 2) del soma: el área, el perímetro, el eje mayor y el ancho, en las diferentes edades y condiciones experimentales.

### **Estadística**

Los valores obtenidos en cada una de las condiciones experimentales, se analizaron empleando el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Science). La apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados se evaluó empleando el análisis de varianza, con la prueba de Kruskal-Wallis y la prueba post hoc de U de Mann-Whitney. Los valores del peso corporal y cerebral se analizaron empleando un ANOVA de dos factores para muestras independientes de 3 (edades) X 3 (condiciones de nutrición) y pruebas post hoc de tukey para días particulares. Además se realizaron las

comparaciones por condición de nutrición y por la edad. En el caso de los órdenes dendríticos se empleó un ANOVA multifactorial, con 3 (edades) X 3 (condiciones de nutrición) X 3 (tipos de neuronas). Para la extensión dendrítica se empleó un ANOVA similar de 3 (edades) X 3 (condiciones de nutrición) X 3 (tipos de neuronas) y para el soma neuronal, éste fue de 3 (edades) X 3 (condiciones de nutrición) X 3 (tipos de neuronas). Para el caso de las comparaciones para los distintos grupos en días particulares del estudio, se realizaron pruebas post hoc de Tukey.

## Diagrama 1

### MATERIAL Y MÉTODOS

25 hembras y 10 machos de ratas Wistar.  
Condiciones de bioterio: temperatura 22-24°C,  
humedad 40-50 %. Ciclo LO 12 /12 h.

### CRUZA Y DESNUTRICIÓN PRENATAL

5 hembras, 2 machos (250-300 g) por caja, frotis vaginales positivos (presencia de espermatozoides)=día 0 gestacional (G0).

#### Grupo desnutrido

Ratas preñadas (G6-G12), 50% de alimento y (G13-G21), 60% de alimento (Purina chow) y agua ad libitum

#### Grupo control

Ratas preñadas (G0-G21) alimentadas con Purina chow y agua ad libitum

### Parto

#### Grupo desnutrido

Intercambio de madres (cada/12h) entre un par de camadas lactantes, una ligada de los conductos galáctoforos (días 1-23 postnatal)

#### Grupo restituido

Intercambio de madres (cada/12h) entre un par de camadas lactantes normales (día 1-23 postnatal)

#### Grupo control

Intercambio de madres (cada/12h) entre un par de camadas lactantes normales

### Evaluación del desarrollo físico

Registro del peso corporal cada 5 días (días 1-30 de edad), y apertura de ojos y oídos (días 8-16 de edad)

### Histología y morfometría

Se tomaron muestras de 30 neuronas de cada tipo (fusiformes, triangulares y estrelladas) y se midieron el soma y el árbol dendrítico, órdenes dendríticos, extensión dendrítica (método de Sholl).  
Parámetros del soma: área, perímetro, eje mayor y anchura. Las mediciones se realizaron mediante el uso de un programa de análisis de imágenes:



## RESULTADOS

### Alteraciones producidas por la desnutrición sobre el desarrollo físico

#### Apertura de conductos auditivos externos y párpados

En la comparación del tiempo de la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados (oídos y ojos), se encontraron diferencias significativas debidas a la condición de nutrición al hacer el análisis de varianza con la prueba de Kruskal-Wallis y la prueba post hoc de U de Mann Whitney (Tablas I y II).

**TABLA I**  
**Apertura de ojos y oídos de ratas en desarrollo (n=30).**

Edad (días)	H	p=
	Oídos	
8	15.28	0.0005
9	4.65	NS
10	2.00	NS
11	64.49	0.0001
12	146.63	0.0001
13	151.15	0.0001
14	99.02	0.0001
15	NS	NS
	Ojos	
13	10.21	0.0060
14	48.54	0.0001
15	159.14	0.0001

Prueba de Kruskal-Wallis

#### Apertura de conductos auditivos externos

Las crías del grupo desnutrido mostraron diferencias significativas en la apertura de los conductos auditivos externos. En este grupo los oídos se abrieron completamente el día 15, en tanto que en el grupo control se abrieron el día 14. Las diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el grupo control y el

desnutrido se observaron del día 11 al 13, con diferencias significativas pequeñas entre el grupo control y restituido. Los desnutridos presentaron un retardo en la apertura de oídos del día 11 al 14 con respecto a los restituidos (Tablas II y III).

### Apertura de párpados

La apertura de los párpados mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el grupo control y el desnutrido los días 14 y 15. Las crías del grupo desnutrido presentaron atraso de 1 día en la apertura de los párpados, en el grupo control abrieron el día 15 y los desnutridos hasta el día 16. Los desnutridos retardaron su apertura de ojos los días 14 y 15 con respecto a los restituidos (Tablas II y III).

**TABLA II**

Comparación por condición de la apertura de conductos auditivos externos y párpados. Grupos control (C), desnutrido (D) y restituido (R).

Edad (días)	C vs D	VALORES DE U	
		C vs R	D vs R
Oídos			
8	1560.00 NS	1440.00 (0.0294)	1680.00 NS
9	1711.00 NS	1740.00 NS	1770.00 NS
10	1770.00 NS	1800.00 NS	1770.00 NS
11	767.00 (0.0001)	1620.00 NS	590.00 (0.0001)
12	3.50 (0.0001)	1440.00 (0.0294)	9.50 (0.0001)
13	100.00 (0.0001)	1500.00 NS	0.00 (0.0001)
14	630.00 (0.0001)	1800.00 NS	630.00 (0.0001)
Ojos			
13	1741.00 NS	1587.00 NS	1534.00 NS
14	696.00 (0.0001)	1742.50 NS	822.00 (0.0001)
15	780.00 (0.0001)	1800.00 NS	1030.00 (0.0001)

Prueba de U de Mann-Whitney. NS, no significativo, \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.001$ ; \*\*\*,  $p < 0.0001$ . Valores de "p" entre paréntesis.

**TABLA III**

Media±error estándar, de la apertura de oídos y ojos de ratas en desarrollo

Edad (días)	Control (C)	Desnutrido (D)	Restituido (R)	C vs D	C vs R	D vs R
<b>Oídos</b>						
8	0.733±0.058	0.933±0.320	1.000±0.000	NS	*	NS
9	1.000±0.000	1.017±0.017	1.000±0.000	NS	NS	NS
10	1.000±0.000	0.983±0.017	1.000±0.000	NS	NS	NS
11	1.567±0.065	0.983±0.017	1.667±0.061	***	NS	***
12	2.883±0.042	1.017±0.017	2.633±0.063	***	**	***
13	2.833±0.049	1.333±0.061	3.000±0.000	***	NS	***
14	3.000±0.000	2.367±0.063	3.000±0.000	***	***	***
<b>Ojos</b>						
13	0.067±0.049	0.033±0.033	0.200±0.062	NS	NS	NS
14	2.133±0.000	0.100±0.039	1.033±0.119	**	NS	***
15	3.000±0.000	2.500±0.081	3.000±0.000	***	NS	***

**Pesos corporal y cerebral**

El desarrollo físico se evaluó registrando cada cinco días el peso corporal, el peso cerebral se registró el día que se sacrificaron los animales (12, 20 y 30 días postnatales). Los resultados se evaluaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) con la condición de nutrición y la edad como los factores (Tablas IV y V), seguido de la prueba post hoc de Tukey. El peso corporal mostró diferencias significativas debidas a la condición de nutrición  $F(2,81)= 82.812$ ,  $p<0.0001$  y a la edad,  $F(2,81)= 321.072$ ,  $p<0.0001$  así como a la interacción entre los factores edad x condición de nutrición,  $F(4,81)= 17.715$ ,  $p<0.0001$  (Tabla IV). Para el peso cerebral se observaron también diferencias significativas debidas a la condición de nutrición,  $F(2,81)= 12.791$ ,  $p<0.0001$  y a la edad  $F(2,81)= 80.874$ ,  $p<0.0001$  y a la interacción de los factores condición de nutrición x edad,  $F(4,81)= 8.269$ ,  $p<0.0001$  (Tabla IV).

El peso corporal disminuyó significativamente los días 10, 15, 20 y 25 en el grupo desnutrido en comparación con el grupo control. En el grupo restituido disminuyó significativamente ( $p<0.0001$ ) el peso corporal los días 1, 10, 15 y 25 de edad en comparación con el grupo control (Tabla V).

Los animales de grupo desnutrido mostraron una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) los días 1 al 30 en comparación con el grupo control y del día 5 al 25 en comparación con el grupo restituido. Los animales del grupo con restitución de alimento mostraron incrementos en su peso corporal al aumentar la edad, siendo sus valores significativos menores a los del grupo control del día 1 al 25 de edad, hasta que el peso se igualó al de los controles a los 30 días de edad (Fig. 6).

El análisis post hoc realizado a lo largo de las edades del estudio sobre los valores del peso cerebral, indicó una disminución significativa a los 12, 20 y 30 días de edad en el grupo desnutrido en comparación con el control. El grupo restituido sólo mostró disminución significativa a los 12 días en comparación con el grupo desnutrido y a los 30 días de edad comparado con el control (ver Tabla V y Fig. 6).

#### TABLA IV

Comparación de los efectos sobre el peso corporal y cerebral en diferentes condiciones de nutrición, control (C), desnutrido (D) y restituido (R) de ratas en desarrollo.

	Nutrición (A)		Edad (B)		(AXB)	
Pesos (g)	gl (2,189)		gl (6,189)		(12,189)	
	F	p<	F	p<	F	p<
Corporal	171.600	(0.0001)	318.070	(0.0001)	16.63	(0.0001)
Cerebral	12.791	(0.0001)	80.874	(0.0001)	8.269	(0.0001)

ANOVA de 2 factores; gl, grados de libertad.

**TABLA V**

Comparación de los efectos sobre el peso corporal y cerebral en las 3 condiciones de nutrición de ratas de 12, 20 y 30 días postnatales.

Edad (días)	gl F(2, 27)	p<	C vs D	C vs R	D vs R
<b>Corporal</b>					
1	14.740	0.0001	***	NS	***
5	57.910	0.0001	***	***	***
10	38.340	0.0001	***	***	***
15	45.550	0.0001	***	***	***
20	73.760	0.0001	***	***	***
25	51.050	0.0001	***	***	***
30	30.360	0.0001	***	NS	***
<b>Cerebral</b>					
12	13.580	0.0001	***	NS	***
20	3.650	0.0001	*	NS	NS
30	7.990	0.0001	*	**	NS

Prueba post hoc de Tukey.

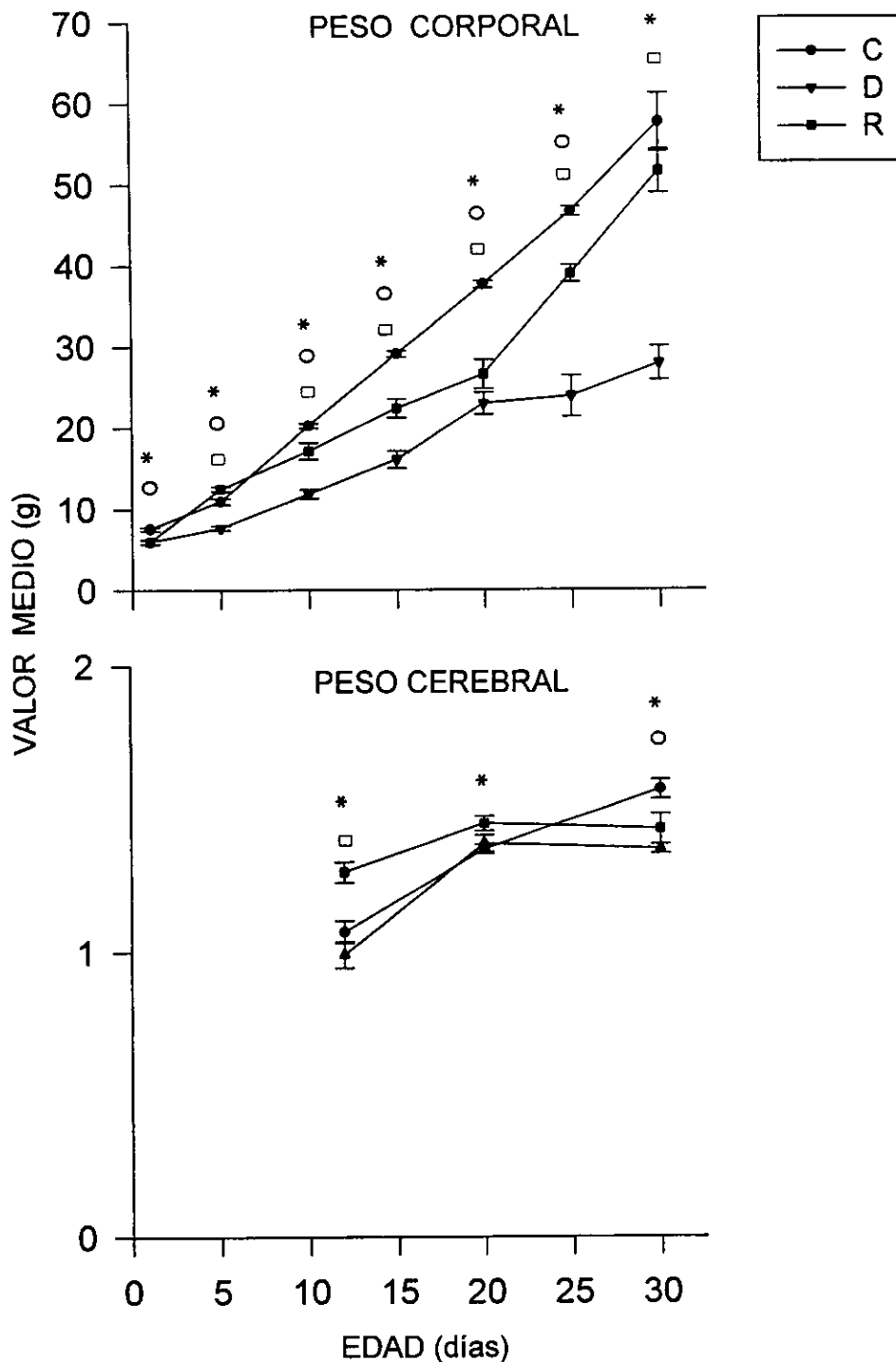


Fig. 6. Se muestran las curvas promedio de los pesos corporal (n=10 sujetos/grupo) y cerebral (n=10 sujetos/grupo) de los grupos control (C), desnutrido (D) y restituido (R). Los símbolos indican, diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos: \* C vs D; o C vs R y □ D vs R.

## **Efectos de las condiciones de nutrición sobre el desarrollo neuronal**

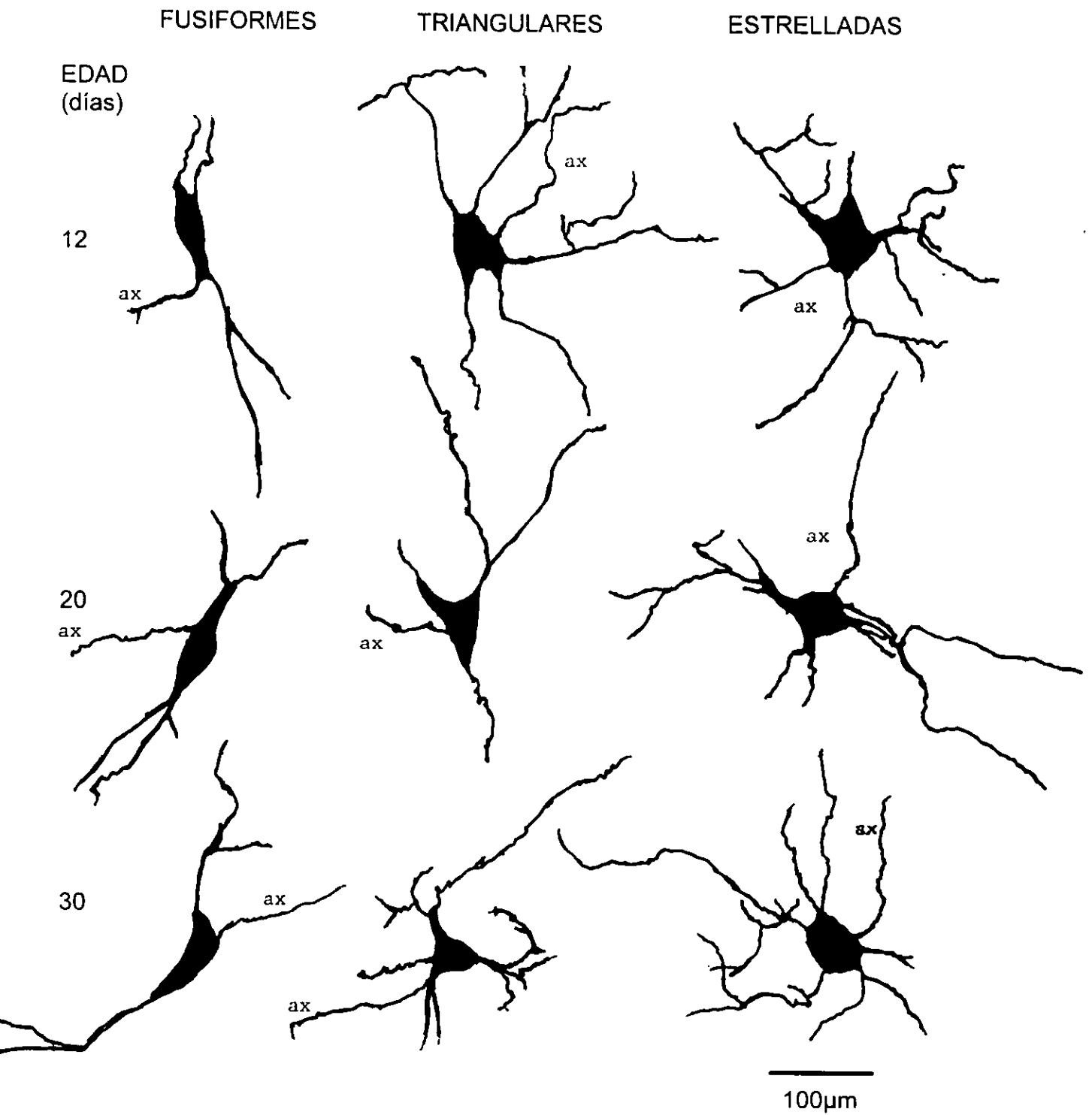
Las comparaciones de los parámetros del árbol dendrítico y del soma de los tres tipos de neuronas (Figs. 7 y 8) que se obtuvieron con un análisis de varianza de 3 factores (ANOVA), con los factores condición de nutrición, edad y tipo de neurona se muestran en la Tabla VI. El análisis de las mediciones para edades particulares y tipos de neuronas se obtuvieron con la prueba post hoc de Tukey con un nivel de  $\alpha < 0.05$ . Los resultados obtenidos de los parámetros medidos del soma mostraron efectos debidos a la condición nutricional, a la edad, al tipo de neurona y se observaron también interacciones entre los factores. Las diferencias significativas obtenidas, con el análisis post hoc de Tukey ( $p < 0.05$ ) en los días particulares en cada tipo de neurona así como las comparaciones por la edad se muestran en las gráficas subsecuentes.

### **Comparación de los grupos por condición nutricional**

#### **Número de ramas dendríticas**

Los efectos provocados por las condiciones de nutrición, de edad, el tipo neuronal y sus interacciones sobre el número de las ramas dendríticas se muestran en la Tabla VI, y las comparaciones entre grupos en los órdenes dendríticos en la figura 9.

A los 12 días de edad en las neuronas fusiformes del grupo desnutrido, se redujo el número de ramas de 2o orden,  $F(2,87) = 10.20$ ,  $p < 0.0001$ , y las ramas de 3er orden disminuyeron significativamente,  $F(2,87) = 3.30$ ,  $p < 0.05$ , en comparación con las del grupo control y restituido. Las neuronas triangulares mostraron disminución significativa,  $F(2,87) = 5.85$ ,  $p < 0.05$ , en el número de ramas de 3er orden en el grupo desnutrido, en comparación con los grupos control y restituido. En las neuronas estrelladas del grupo desnutrido, hubo disminuciones significativas,  $F(2,87) = 18.24$ ,  $p < 0.0001$  del número de ramas de 2o orden con relación a los otros 2 grupos. El número de ramas de 2o



7. Dibujo en cámara lucida de los tres tipos de neuronas, bipolares, triangulares y estrelladas del NF, de 12, 20 y 30 días de edad del grupo control.





Fig. 8. Fotomicrografías de neuronas fusiformes (F), triangulares (T) y estrelladas (E) del NF, teñidas con la técnica de Golgi-Cox.

**TABLA VI**

Comparación de los efectos de la nutrición, la edad y el tipo de neuronas sobre el desarrollo del árbol dendrítico y el soma neuronal del NF de ratas en desarrollo.

	Nutrición (A)		Edad (B)		Tipo de neurona (C)		A x B		A x C		B x C		A x B x C	
	F	p=	F	p=	F	p=	F	p=	F	p=	F	p=	F	p=
Órdenes														
1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
2	16.2300	0.0001	NS	NS	16.1300	0.0001	5.3800	0.0001	2.4600	0.0430	NS	NS	2.1700	0.0280
3	28.1500	0.0001	26.8800	0.0001	4.4530	0.0120	14.9400	0.0001	23.8100	0.0001	8.2800	0.0001	16.4300	0.0001
4	3.4900	0.0310	12.8900	0.0001	3.2700	0.0380	12.6200	0.0001	8.5400	0.0001	8.1900	0.0001	5.6200	0.0001
5	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Árbol														
Órdenes														
1	6.3300	0.00200	6.4100	0.0020	374.5300	0.0001	2.1200	0.0090	NS	NS	4.2700	0.0020	NS	NS
2	NS	NS	9.8500	0.0010	153.1600	0.0001	2.9500	0.0190	NS	NS	3.5670	0.0070	NS	NS
3	13.4600	0.0001	NS	NS	10.8900	0.0001	5.1700	0.0010	NS	NS	NS	NS	NS	NS
4	8.6800	0.0001	5.6300	0.0040	3.5100	0.0300	8.8100	0.0001	3.2700	0.0110	NS	NS	NS	NS
5	7.1970	0.0010	9.4800	0.0001	5.3200	0.0050	3.7100	0.0050	NS	NS	NS	NS	2.1900	0.0260
6	7.2900	0.0010	7.9100	0.0001	13.5600	0.0001	NS	NS	NS	NS	2.6500	0.0320	NS	NS
7	9.7700	0.0001	18.1500	0.0001	NS	NS	18.5700	0.0001	NS	NS	NS	NS	2.2400	0.0230
8	18.2800	0.0001	18.2800	0.0001	NS	NS	17.9600	0.0001	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Círculos														
1	7.7400	0.0001	25.6300	0.0001	NS	NS	7.4100	0.0001	NS	NS	2.9400	0.0200	NS	NS
2	4.1000	0.0170	NS	NS	10.2900	0.0001	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
3	15.5400	0.0001	62.5600	0.0001	336.3600	0.0001	8.7400	0.0001	5.8200	0.0020	16.2600	0.0001	6.5200	0.0001
4	3.2400	0.0400	24.3200	0.0001	70.6300	0.0001	7.6600	0.0001	NS	NS	2.6800	0.0310	NS	NS
Soma														
P														
M														
A														
Ar														

ANOVA de tres vías. NS, no significativo.

orden del grupo restituido aumentó significativamente,  $F(2,87)= 18.24$ ,  $p<0.05$ , con respecto al control.

A la edad de 20 días, en las neuronas fusiformes del grupo restituido, aumentó,  $F(2,87)= 102.52$ ,  $p<0.0001$  el número de ramas de 3er orden en comparación con los grupos control y desnutrido. En las neuronas triangulares las ramas dendríticas de 4o orden del grupo desnutrido, se redujeron significativamente,  $F(2,87)= 15.06$ ,  $p<0.0001$ , comparadas con los otros dos grupos experimentales. En las neuronas estrelladas las ramas de 4o orden del grupo restituido, aumentaron significativamente,  $F(2,87)= 5.47$ ,  $p<0.05$ , con relación a los otros 2 grupos experimentales (Fig. 9).

A los 30 días postnatales, las neuronas fusiformes del grupo restituido mostraron disminución estadísticamente significativa,  $F(2,87)= 3.14$ ,  $p<0.05$  en el número de ramas de 3er orden, en comparación con el grupo control. En las neuronas triangulares no se encontraron diferencias significativas. En las neuronas estrelladas las ramas de 3er orden mostraron disminución significativa,  $F(2,87)= 3.35$ ,  $p<0.05$ , en el grupo restituido en comparación con los grupos control y desnutrido. Además el número de ramas de 4o orden del grupo desnutrido se incrementó significativamente,  $F(2,87)= 4.16$ ,  $p<0.05$  con respecto a los otros 2 grupos experimentales.

### **Extensión dendrítica**

Los efectos producidos por la condición de nutrición, la edad, el tipo de neurona y sus interacciones sobre la extensión de los árboles dendríticos, se presentan en la tabla VI y las comparaciones entre grupos en los cruces dendríticos en la figura 10. A los 12 días de edad en las neuronas fusiformes del grupo desnutrido disminuyó significativamente el número de cruces en los anillos 2, 4 y 5. En el anillo 2,  $F(2, 87)=4.13$ ,  $p<0.05$ , en el anillo 4,  $F(2,87)= 11.96$ ,  $p<0.0001$  y en el anillo 5,  $F(2,87)= 7.71$ ,  $p<0.001$  en comparación con el grupo control. En el grupo restituido aumentó significativamente,  $F(2,87)= 4.13$ ,  $p<0.05$  el número de cruces en los anillos 2 y 4, en el anillo 2,  $F(2,87)=4.13$   $p<0.05$  y en el anillo 4,  $F(2,87)=11.96$ ,  $p<0.0001$  en comparación con el grupo desnutrido. En los anillos 6 y 7 aumentó significativamente el

número de cruces en el grupo restituido en comparación con los grupos control y desnutrido, en el anillo 6,  $F(2,87)= 6.88$ ,  $p<0.05$ , en el anillo 7,  $F(2,87)= 10.86$ ,  $p<0.05$ . En relación con las neuronas triangulares el grupo restituido mostró aumento significativo,  $F(2,87)= 3.93$ ,  $p<0.05$  del número de cruces en el anillo 4, en comparación con el grupo desnutrido. En los anillos 6,  $F(2,87)= 5.41$ ,  $p<0.05$  y en el 7 aumentó significativamente,  $F(2,87)= 7.33$ ,  $p<0.05$  el número de cruces en el grupo restituido en comparación con el grupo desnutrido. En el anillo 8,  $F(2,87)= 9.02$ ,  $p<0.001$  el grupo restituido aumentó el número de cruces en comparación con el grupo control y el desnutrido. En relación a las neuronas estrelladas, en el anillo 1 del grupo restituido aumentó el número de cruces,  $F(2,87)= 3.22$ ,  $p<0.05$ , y en el grupo restituido en el anillo 2 aumentaron los cruces dendríticos,  $F(2,87)= 5.81$ , ( $p<0.05$ ) en comparación con el grupo desnutrido y en los anillos 2 al 4 aumentó significativamente el número de cruces en el anillo 2,  $F(2, 87)= 5.81$ ,  $p<.05$ , en el anillo 3,  $F(2,87)= 13.71$ ,  $p<.0001$ ; en el anillo 4,  $F(2,87)= 7.40$ ,  $p<0.05$  en el grupo restituido, en comparación con los grupos control y desnutrido. En los círculos 7  $F(2,87)= 9.76$ ,  $p<.05$  y en el anillo 8,  $F(2,87)= 6.36$ , ( $p<0.05$ ) del grupo restituido, aumentaron las ramas dendríticas con respecto a los valores de los otros 2 grupos experimentales (Fig. 10).

En las neuronas triangulares no hubo cambios significativos. En las neuronas estrelladas de los grupos desnutrido y restituido aumentó significativamente el número de cruces en el anillo 2,  $(2, 87)= 4.32$ ,  $p<0.05$  en comparación con el grupo control (Fig. 10).

A los 30 días postparto las neuronas fusiformes mostraron en el anillo 3 aumento del número de cruces,  $F(2,87)= 4.17$ ,  $p<0.05$  en el grupo desnutrido, en comparación a los grupos control y restituido. En los anillos 4 al 7, aumentó significativamente el número de cruces, en el 4,  $F(2,87)= 5.23$ ,  $p<.05$ , en el anillo 5,  $F(2,87)= 7.96$ ,  $p< 0.001$ , en el anillo 6,  $F(2,87)= 12.42$ ,  $p<0.0001$ , en el anillo 7 aumentó,  $F(2,87)=4.02$ ,  $p<0.05$  el número de cruces en los grupos desnutrido y restituido en comparación al grupo control. En las neuronas triangulares en el anillo 3 aumentó significativamente el número de cruces,  $F(2,87)= 7.80$ ,  $p<0.001$  en el grupo desnutrido en comparación con los grupos

control y restituido; y en los de los grupos desnutrido y restituido aumentó significativamente el número de cruces en los anillos 4 al 6; en el anillo 4,  $F(2,87)= 14.02$ ,  $p<0.0001$ , en el anillo 5,  $F(2,87)= 15.10$ ,  $p<0.0001$ , en el anillo 6,  $F(2,87)= 5.37$ ,  $p<0.05$  en comparación con el grupo control. En cuanto a las neuronas estrelladas no hubo diferencias significativas en el número de cruces al comparar las tres condiciones de nutrición (Fig. 10).

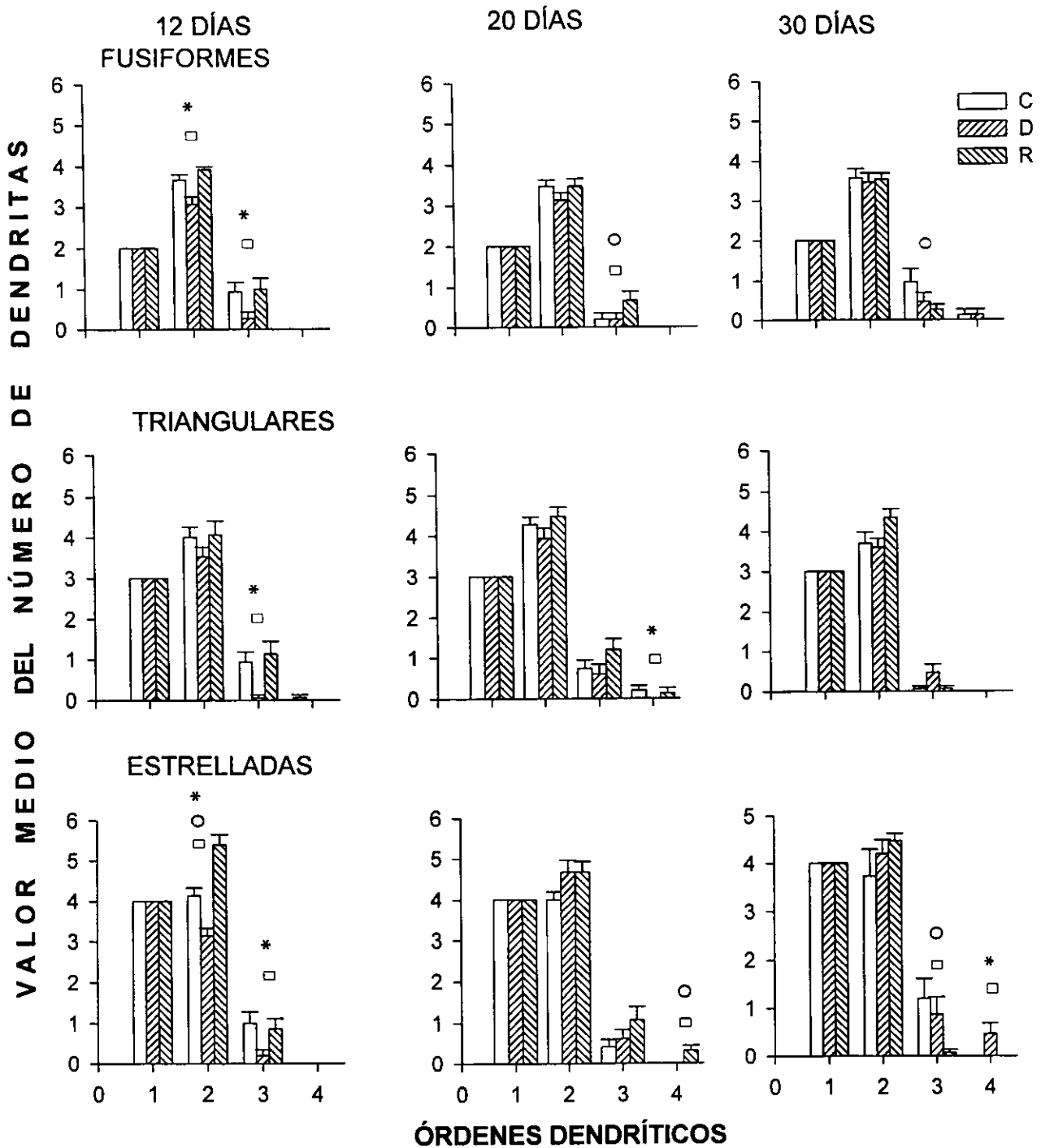


Fig. 9. Comparación por condición nutricional del número promedio de los diferentes órdenes dendríticos (1, 2, 3 y 4) en los tres tipos de neuronas en los grupos C, D y R durante el desarrollo. Los símbolos indican, diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos: \* C vs D; o C vs R y □ D vs R.

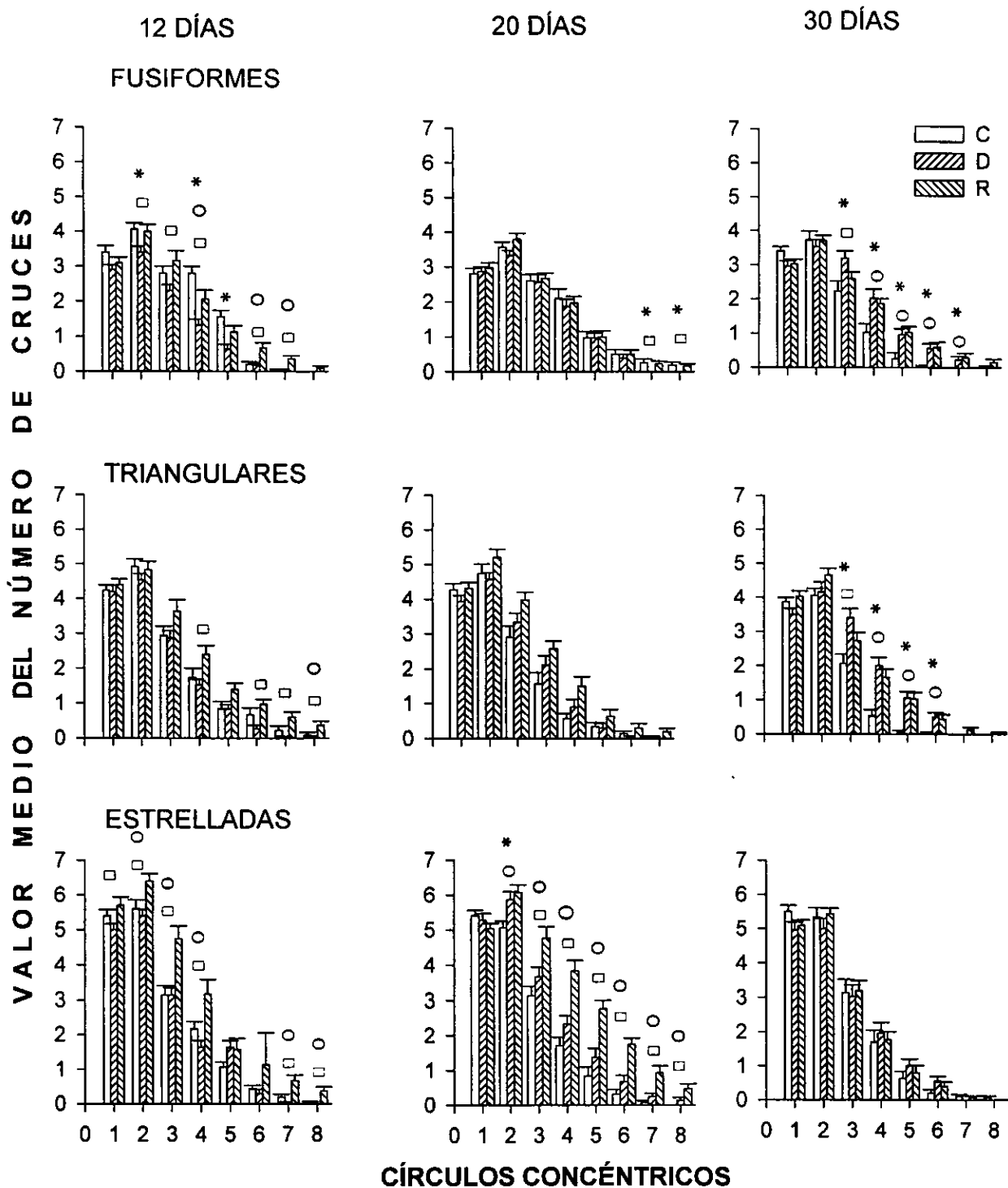


Fig. 10. Comparación por condición de nutrición del número promedio de cruces dendríticos en los 8 círculos concéntricos en los tres tipos de neuronas de los grupos C, D y R durante el desarrollo. Los símbolos indican, diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos: \* C vs D; o C vs R y □ D vs R.

## Efectos de las condiciones de nutrición sobre el desarrollo del soma neuronal

Los efectos producidos por la condición de nutrición, la edad, el tipo de neurona y sus interacciones sobre el soma neuronal se presentan en las tablas VI y VII y sobre los otros parámetros del soma en la figura 11. En el ANOVA global de 3 factores (Tabla VI), el área somática fue significativamente modificada por la condición de nutrición  $F(2,783)= 3.24$ ,  $p<0.05$ , por la edad,  $F(2,783)=24.32$ ,  $p<0.0001$ , el tipo de neurona,  $F(2,783)= 70.63$ ,  $p<0.0001$ ; asimismo, hubo interacción entre la condición de nutrición x la edad,  $F(4,801)=7.66$ ,  $p<0.0001$  y la edad x el tipo de neurona,  $F(4,783)= 2.68$ ,  $p<0.05$ . No hubo interacción entre los 3 factores.

En los tres tipos de neuronas a los 12 días de edad, no se observaron diferencias significativas en los parámetros del soma al comparar diferentes condiciones experimentales (ver Tabla VII y Fig. 11).

A los 20 días de edad, en las neuronas fusiformes el área del soma aumentó significativamente en el grupo restituido,  $F(2,87)= 10.76$ ,  $p<0.001$  en comparación con el grupo control; el perímetro,  $F(2,87)= 10.26$ ,  $p<0.001$  y el eje mayor del soma,  $F(2,87)= 9.77$ ,  $p<0.001$  mostraron aumentos significativos en el grupo restituido, en comparación con los grupos control y desnutrido. En las neuronas triangulares y estrelladas no se observaron diferencias significativas en el área al comparar las tres condiciones de nutrición (Tabla VII). En las neuronas triangulares el área aumentó significativamente,  $F(2,87)= 10.76$ ,  $p<0.001$  y la anchura del soma disminuyó significativamente  $F(2,87)=44.01$ ,  $p<0.001$  en los grupos desnutrido y restituido, en comparación al grupo control. En las neuronas estrelladas el perímetro del soma, disminuyó significativamente,  $F(2,87)= 3.11$ ,  $p<0.05$  en el grupo desnutrido, en comparación con el grupo control (Fig. 11).

Las neuronas fusiformes de 30 días postparto mostraron disminución significativa del perímetro,  $F(2,87)= 4.03$ ,  $p<0.05$  y eje mayor  $F(2,87)= 5.66$ ,



$p < 0.05$ , en el grupo desnutrido en comparación con el grupo control. En las neuronas triangulares el perímetro disminuyó significativamente  $F(2,87) = 3.25$ ,  $p < 0.05$  en el grupo desnutrido, en comparación con el grupo control. En las neuronas estrelladas no hubo cambios significativos en relación a los parámetros del soma (Fig. 11).

**TABLA VII**

Valor medio  $\pm$  error estándar del área de las neuronas del NF en las tres condiciones de nutrición.

EDAD (días)	CONTROL	DESNUTRIDO	RESTITUIDO	C vs D	C vs R	D vs R
<b>FUSIFORMES</b>						
12	602.08 $\pm$ 28.21	668.91 $\pm$ 40.69	657.5 $\pm$ 28.68	NS	NS	NS
20	727.95 $\pm$ 50.09	603.81 $\pm$ 32.96	895.45 $\pm$ 48.68	NS	***	***
30	813.10 $\pm$ 44.57	732.90 $\pm$ 42.07	739.45 $\pm$ 34.65	NS	NS	NS
<b>TRIANGULARES</b>						
12	735.80 $\pm$ 37.95	754.96 $\pm$ 56.19	668.21 $\pm$ 37.43	NS	NS	NS
20	784.63 $\pm$ 35.23	813.44 $\pm$ 44.43	923.21 $\pm$ 44.57	NS	NS	NS
30	900.01 $\pm$ 50.36	783.21 $\pm$ 28.79	863.27 $\pm$ 46.95	NS	NS	NS
<b>ESTRELLADAS</b>						
12	848.64 $\pm$ 49.05	935.34 $\pm$ 41.51	829.45 $\pm$ 30.44	NS	NS	NS
20	1134.87 $\pm$ 54.27	980.57 $\pm$ 43.63	1100.17 $\pm$ 61.14	NS	NS	NS
30	1034.32 $\pm$ 70.46	890.61 $\pm$ 43.63	903.14 $\pm$ 35.94	NS	NS	NS

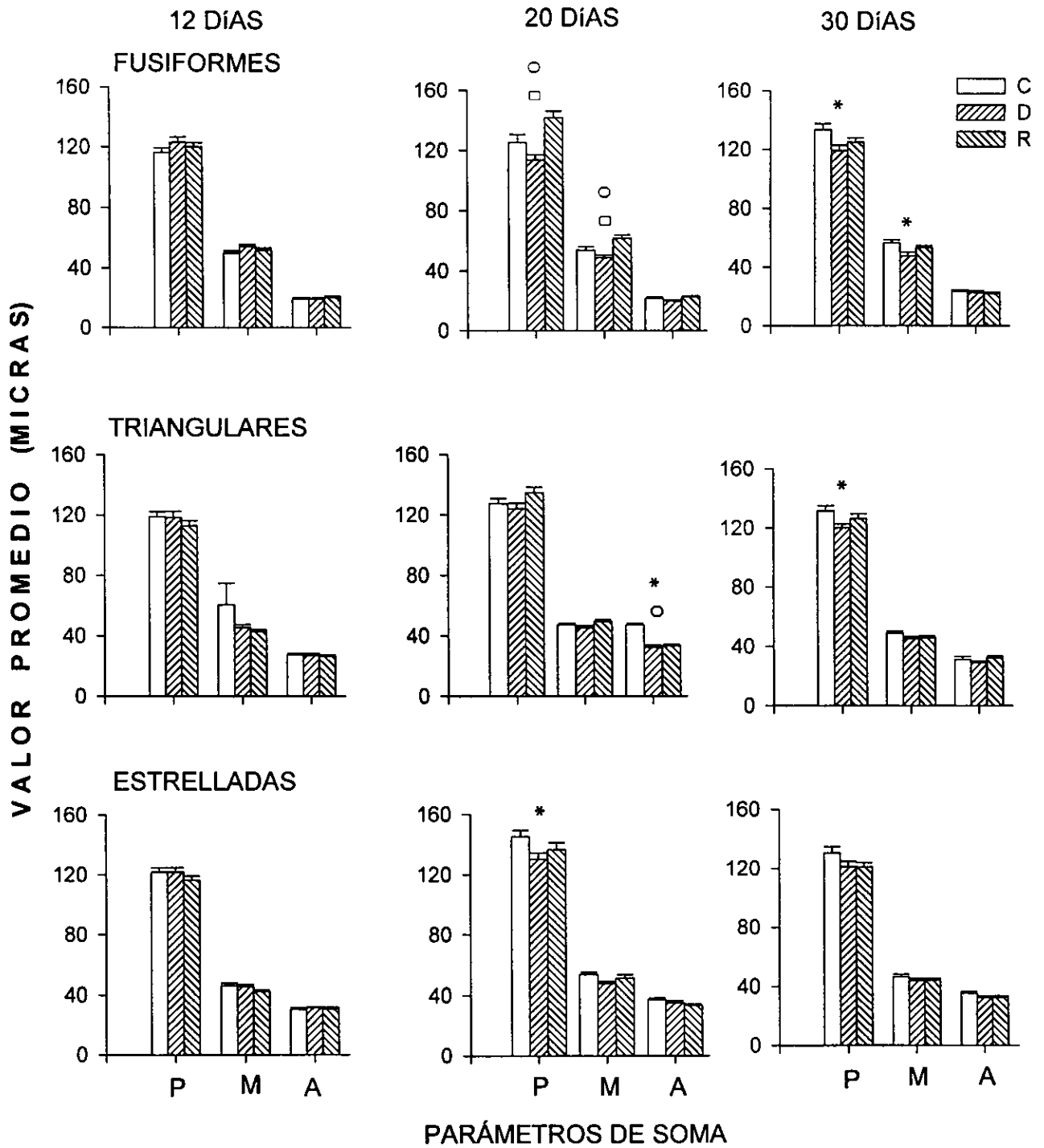


Fig. 11. Comparación por condición de nutrición de las medidas promedio del perímetro (P), diámetro mayor (M) y anchura (A), de los tres tipos de neuronas fusiformes, triangulares y estrelladas del núcleo motor del nervio facial, en los grupos de 12, 20 y 30 días de edad. Los símbolos indican, diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos: \* C vs D; o C vs R y □ D vs R.

## **Comparación de los grupos experimentales por edad**

### **Número de ramas dendríticas**

#### ***Grupo control***

En las neuronas fusiformes, disminuyeron significativamente,  $F(2,87)=36.22$ ,  $p<0.001$  el número de las ramas de 3er orden de los 12 a los 20 días de edad, en tanto que se observó un aumento significativo,  $F(2,87)=36.22$ ,  $p<0.001$  de los 20 a los 30 días postparto (Fig. 12). En las neuronas triangulares y estrelladas no se observaron diferencias significativas en el número de ramas al comparar las 3 edades.

#### ***Grupo desnutrido***

En las neuronas fusiformes y triangulares no se observaron diferencias significativas en el número de ramas al comparar las tres edades estudiadas. En las neuronas estrelladas aumentó significativamente el número de ramas de 2o orden de los 12 a los 20 días,  $F(2,87)=6.47$ ,  $p<0.05$  y de los 12 a los 30,  $F(2,87)=6.47$ ,  $p<0.05$  días de edad. Asimismo, las ramas de 4o orden aumentaron significativamente de los 12 a los 30,  $F(2,87)=4.16$ ,  $p<0.05$  y de los 20 a los 30,  $F(2,87)=4.16$ ,  $p<0.05$  días de postparto (Fig. 12).

#### ***Grupo restituido***

Las neuronas fusiformes del grupo restituido, mostraron disminución significativa de las ramas de 2o orden de los 12 a los 30 días,  $F(2,87)=10.16$ ,  $p<0.001$ , y de los 20 a los 30,  $F(2,87)=10.16$ ,  $p<0.001$  días de edad. Asimismo, las dendritas de 3er orden disminuyeron significativamente,

$F(2,87)= 4.44$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 30 días de edad. Las neuronas triangulares, mostraron disminución significativa de las ramas de 3er orden de los 12 a los 30,  $F(2,87)= 70.41$ ,  $p<0.001$  y de los 20 a los 30,  $F(2,87)= 70.41$ ,  $p<0.001$  días postnatales. En las neuronas estrelladas las ramas de 2o orden, disminuyeron significativamente,  $F(2,87)= 4.58$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 30 días postnatales. Las ramas de 3er orden disminuyeron significativamente de los 12 a los 30,  $F(2,87)= 5.10$ ,  $p<0.05$  y de 20 a 30,  $F(2,87)= 5.10$ ,  $p<0.05$  días postnatales. Asimismo, hubo un aumento significativo, en las ramas de 4o orden de los 12 a los 20,  $F(2,87)= 5.47$ ,  $p<0.05$  y disminución de los 20 a los 30,  $F(2,87)= 5.47$ ,  $p<0.05$  días de edad (Fig. 12).

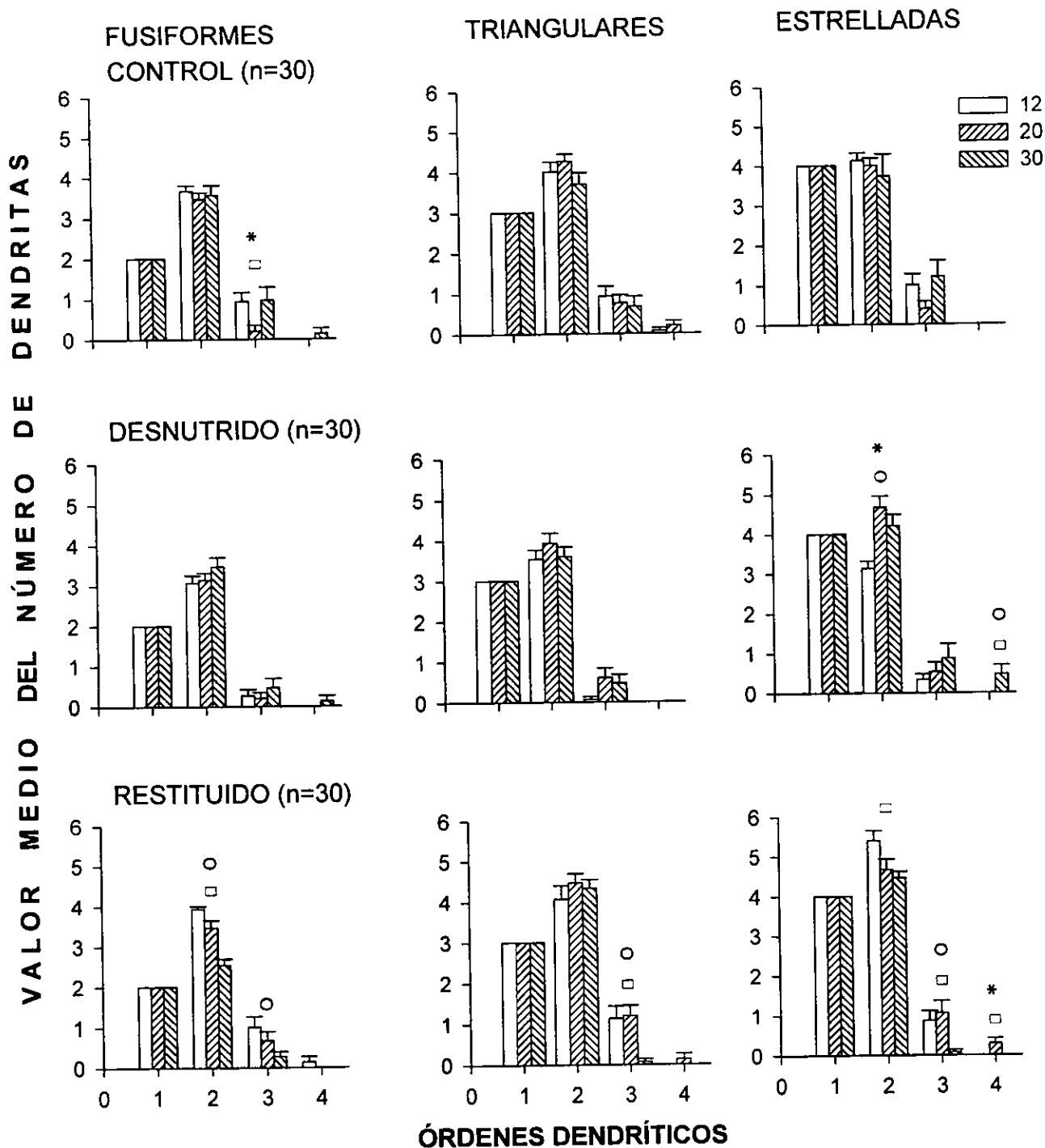


Fig. 12. Comparación por la edad del número promedio de los diferentes órdenes dendríticos (1, 2, 3 y 4) en los tres tipos de neuronas en los grupos control, desnutrido y restituido de 12, 20 y 30 días de edad. Los símbolos indican, diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos: \* 12 vs 20; o 12 vs 30 y □ 20 vs 30.

## **Extensión dendrítica**

La comparación de los grupos por edad en las mediciones de la extensión dendrítica en las diferentes condiciones de nutrición, se presenta en la figura 13.

### **Grupo control**

En las neuronas fusiformes el número de cruces disminuyó significativamente en los anillos 4 y 5 de los 12 a los 30 días de edad y de los 20 a los 30 días postnatales, en el anillo 4,  $F(2,87)= 14.05$ ,  $p<0.001$  y en el 5,  $F(2,87)= 14.38$ ,  $p<0.0001$ . Asimismo, en el anillo 7 se incrementó el número de ramas de los 12 a los 20,  $F(2,87)= 5.08$ ,  $p<0.05$  y se redujo de los 20 a los 30,  $F(2,87)= 5.08$ ,  $p<0.05$  días postparto. En las neuronas triangulares disminuyó significativamente, el número de cruces en los anillos 2 al 5 de los 12 a los 30,  $F(2,87)= 3.90$ ,  $p<0.05$  y de los 20 a los 30,  $F(2,87)= 3.90$ ,  $p<0.05$  días de edad, en el anillo 6 aumentó el número de ellos,  $F(2,87)= 5.74$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 20 días de edad. Las neuronas estrelladas no mostraron diferencias significativas debidas a la condición de nutrición en el número de intersecciones dendríticas (Fig. 13).

### **Grupo desnutrido**

En las neuronas fusiformes aumentó significativamente  $F(2,87)= 3.62$ ,  $p<0.05$  el número de cruces en el anillo 3 de los 12 a los 30 días de edad. En el anillo 4 aumentó significativamente,  $F(2,87)= 3.07$ ,  $p<0.05$  el número de ramas de los 12 a los 20 días postnatales. En el anillo 6 se incrementó significativamente el número de cruces,  $F(2,87)= 4.80$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 30 días postparto. En el anillo 7 éstos aumentaron significativamente,  $F(2,87)= 4.02$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 30 días y de los 20 a los 30,  $F(2,87)= 4.02$ ,  $p<0.05$  días de edad. En las neuronas triangulares no se observaron cambios

significativos al comparar las 3 edades. En las neuronas estrelladas disminuyó significativamente,  $F(2,87)=3.25$ ,  $p<0.05$  el número de prolongaciones dendríticas en el anillo 2 de los 20 a los 30 días de edad, en el anillo 7 aumentó significativamente el número de cruces dendríticos,  $F(2,87)= 4.98$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 20 días de edad (Fig. 13).

### ***Grupo restituido***

En las neuronas fusiformes no se observaron diferencias significativas en el número de cruces al comparar las tres edades. En el anillo 7 se observó disminución significativa,  $F(2,87)= 14.71$ ,  $p<0.001$  de las ramas de los 12 a los 30 días postparto; en el anillo 8 disminuyó significativamente el número de ramas,  $F(2,87)= 9.02$ ,  $p<0.001$  de los 12 a los 20 días de edad y de los 12 a los 30 días postparto,  $F(2,87)= 9.02$ ,  $p<0.001$ . En las neuronas estrelladas en el anillo 2 se redujo significativamente,  $F(2,87)= 8.02$ ,  $p<0.001$  el número de cruces de los 12 a los 30 días postparto y de los 20 a los 30 días de edad,  $F(2,87)= 8.02$ ,  $p<0.001$ . En el anillo 3 se redujo,  $F(2,87)= 6.79$ ,  $p<0.05$  el número de cruces de los 12 a los 30 y de los 20 a los 30 días de edad  $F(2,87)= 6.79$ ,  $p<0.05$ . En el anillo 4 disminuyó significativamente,  $F(2,87)= 3.50$ ,  $p<0.05$  el número de dendritas de los 12 a los 30 días y de los 20 a los 30,  $F(2,87)= 3.50$ ,  $p<0.05$  días postnatales. En el anillo 5 aumentó,  $F(2,87)= 7.02$ ,  $p<0.05$ , el número de cruces de los 12 a los 20 días de edad, y disminuyó el número de ramas de los 20 a los 30,  $F(2,87)= 7.02$ ,  $p<0.05$  días postparto. En el anillo 6 se redujo significativamente,  $F(2,87)= 7.21$ ,  $p<0.05$  el número de ramas de los 20 a los 30 días de edad. En los anillos 7 y 8 se observó una reducción de las intersecciones dendríticas; en el 7,  $F(2,87)= 10.18$ ,  $p<0.001$  de los 12 a los 30 días de edad y de los 20 a los 30 días postparto,  $F(2,87)= 10.18$ ,  $p<0.001$ . En el anillo 8,  $F(2,87)= 6.36$ ,  $p<0.05$ , de los 12 a los 30 días y de los 20 a los 30 días postnatales,  $F(2,87)= 6.36$ ,  $p<0.05$  (Fig. 13).

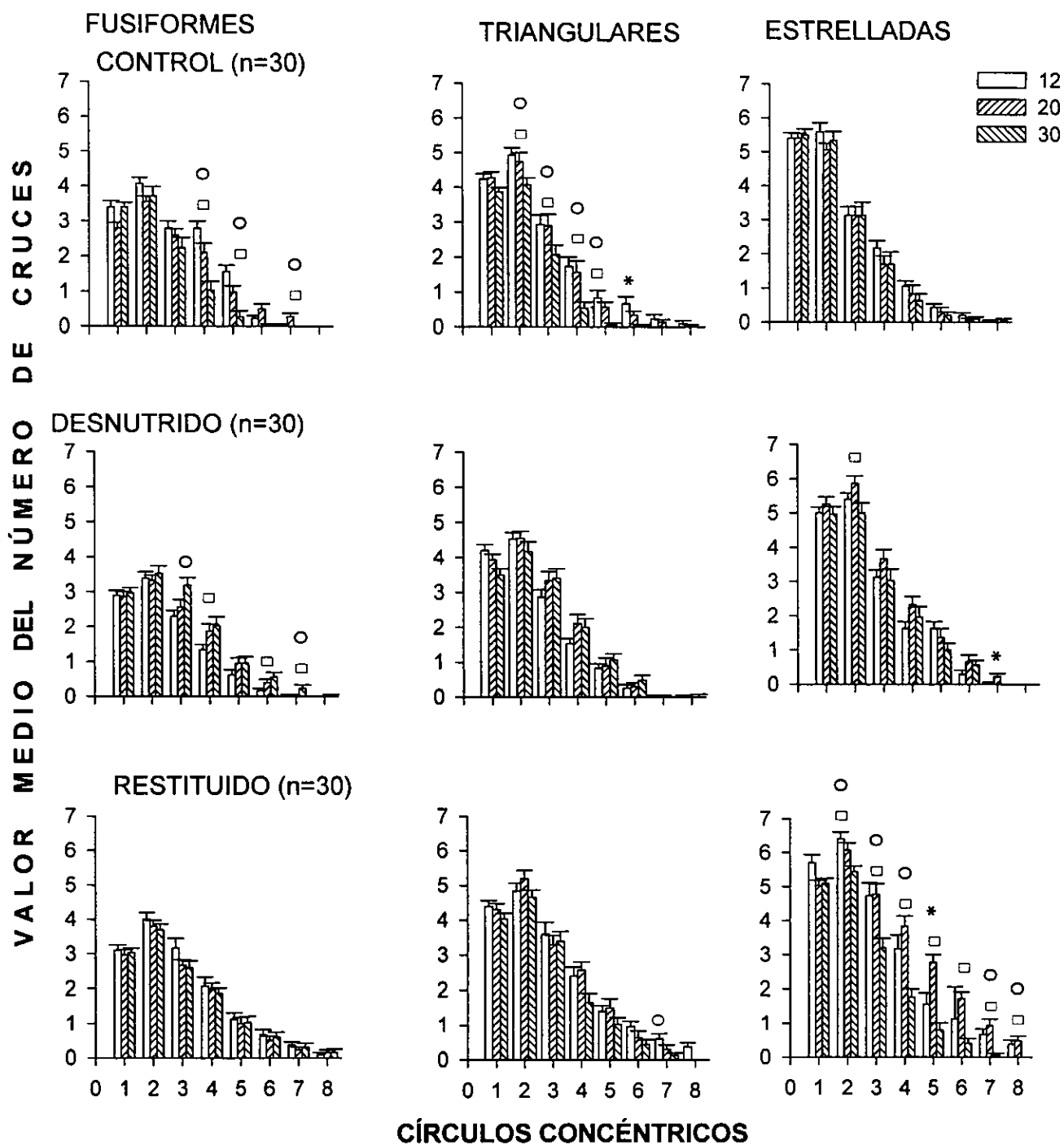


Fig. 13. Comparación por edad del número de cruces dendríticas en los anillos 1 al 8 de las neuronas fusiformes, triangulares y estrelladas en los grupos control, desnutrido y restituido de 12, 20 y 30 días de edad. Los símbolos indican, diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos: \* 12 vs 20; o 12 vs 30 y □ 20 vs 30.



## **Soma neuronal**

Los efectos relacionados con la comparación por edades en las mediciones del soma neuronal (perímetro, diámetro mayor y anchura), en los diferentes tipos neuronales y condiciones de nutrición se presentan en la figura 14 y para el caso del área en la Tabla VIII.

## **Grupo control**

En las neuronas fusiformes el perímetro aumentó significativamente  $F(2,87)= 3.57$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 30 días de edad (Fig. 14). En estas mismas neuronas el área aumentó significativamente,  $F(2,87)= 6.38$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 20 días y de los 20 a los 30,  $F(2,87)= 6.38$ ,  $p<0.05$  días de edad (Tabla VIII).

En las neuronas triangulares aumentó significativamente el perímetro  $F(2,87)= 3.59$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 30 días postnatales. La anchura del soma aumentó significativamente,  $F(2,87)= 88.22$ ,  $p<0.0001$  de los 12 a los 20 días de edad y se redujo significativamente de los 20 a los 30,  $F(2,87)= 88.22$ ,  $p<0.0001$  días de postparto (Fig. 14). En estas mismas neuronas del grupo control aumentó significativamente  $F(2,87)= 4.08$ ,  $p<0.05$  el área del soma neuronal de los 20 a los 30 días de edad (Tabla VIII).

En las neuronas estrelladas el perímetro aumentó de los 12 a los 20 días de edad,  $F(2,87)= 9.52$ ,  $p<0.05$  y disminuyó significativamente de los 20 a los 30 días postnatales  $F(2,87)= 9.52$ ,  $p<0.05$  (Fig. 14 ). El eje mayor del soma aumentó significativamente,  $F(2,87)= 6.62$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 20 días de edad y disminuyó de los 20 a los 30 días postparto,  $F(2,87)= 6.62$ ,  $p<0.05$ . En las neuronas estrelladas del grupo control el área mostró un aumento significativo,  $F(2,87)= 6.13$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 20 días y disminuyó de los

20 a los 30 días postnatales,  $F(2,87)= 6.13$ ,  $p<0.05$  (Tabla VIII). La anchura aumentó significativamente,  $F(2,87)= 9.52$ ,  $p<0.001$  de 12 a los 20 días y de los 12 a los 30 días postparto  $F(2,87)= 9.52$ ,  $p<0.001$  (Tabla VIII).

### ***Grupo desnutrido***

En las neuronas fusiformes no hubo cambios significativos en los parámetros del soma (Fig. 14). En las neuronas triangulares la anchura del soma disminuyó significativamente,  $F(2,87)= 5.00$ ,  $p<0.05$  de los 12 a los 20 días de edad y también decreció de los 12 a los 30 días postnatales,  $F(2,87)=5.00$ ,  $p<0.05$  (Fig. 14). Las neuronas estrelladas no mostraron cambios significativos en las diferentes mediciones del soma (Fig. 14). El área del soma no sufrió cambios significativos a lo largo de la edad en los 3 tipos de neuronas (Tabla VIII).

### ***Grupo restituido***

En las neuronas fusiformes, aumentó significativamente el perímetro  $F(2,87)= 11.79$ ,  $p<0.0001$ , y decreció de los 20 a los 30 días postparto,  $F(2,87)= 11.79$ ,  $p<0.0001$ . El diámetro mayor se incrementó,  $F(2,87)= 10.10$ ,  $p<0.001$  de los 12 a los 20 días y disminuyó significativamente, de los 20 a los 30 días de edad,  $F(2,87)= 10.10$ ,  $p<0.001$  (Fig. 14). El mismo tipo de neuronas del grupo restituido mostraron un aumento significativo,  $F(2,87)= 9.97$ ,  $p<0.001$ , en el área del soma de los 12 a los 20 días de edad y disminución significativa,  $F(2,87)= 9.97$ ,  $p<0.001$  del área somática los 20 a los 30 días postnatales (Tabla VIII).

En las neuronas triangulares el perímetro aumentó significativamente,  $F(2,87)= 10.00$ ,  $p<0.001$ , de los 12 a los 20 días y de los 12 a los 30 días postparto,  $F(2,87)= 10.00$ ,  $p<0.001$ . El eje mayor del soma sólo aumentó

significativamente,  $F(2,87)= 6.21, p<0.05$ , de los 12 a los 20 días de edad (Fig. 14). En las mismas neuronas del grupo restituido aumentó el área de los 12 a los 20,  $F(2,87)= 9.53, p<0.001$  días postparto y disminuyó,  $F(2,87)= 9.53, p<0.001$ , de los 20 a los 30 días de edad (Tabla VIII). En las neuronas estrelladas, aumentó significativamente el perímetro,  $F(2,87)= 9.81, p<0.001$ , de los 12 a los 20 días y decreció de los 20 a los 30 días postparto,  $F(2,87)= 9.81, p<0.0001$ . El diámetro mayor se incrementó significativamente,  $F(2,87)= 9.58, p<0.001$  de los 12 a los 20 días y disminuyó de los 20 a los 30 días de edad,  $F(2,87)= 9.58, p<0.001$  (Fig. 14). El valor del área de las neuronas estrelladas de este mismo grupo se incrementó significativamente, de los 12 a los 20 días,  $F(2,87)= 8.73, p<0.0001$  y disminuyó de los 20 a los 30 días postparto,  $F(2,87)= 8.73, p<0.0001$ (Tabla VIII).

**TABLA VIII**

Valor medio±error estándar del área de las neuronas del NF en las tres condiciones de nutrición, comparación por edad.

CONDICIÓN	EDAD (días)			Comparación por edad		
	12	20	30	12 vs 20	12 vs 30	20 vs 30
<b>FUSIFORMES</b>						
C	602.08±28.21	727.95±50.09	813.10±44.57	*	NS	*
D	668.91±40.69	603.81±32.96	732.90±42.07	NS	NS	NS
R	657.50±28.68	895.45±48.68	739.45±34.65	*	NS	*
<b>TRIANGULARES</b>						
C	735.80±37.95	784.63±35.23	900.01±50.36	NS	NS	*
D	754.96±56.19	813.44±44.43	783.21±28.79	NS	NS	NS
R	668.21±37.43	923.21±44.57	863.27±46.95	**	NS	**
<b>ESTRELLADAS</b>						
C	848.64±49.05	1134.87±54.27	1034.32±70.46	*	NS	*
D	935.34±41.51	980.57±43.63	890.61±.02	NS	NS	NS
R	829.45±30.44	1100.17±61.14	903.14±35.94	***	NS	***

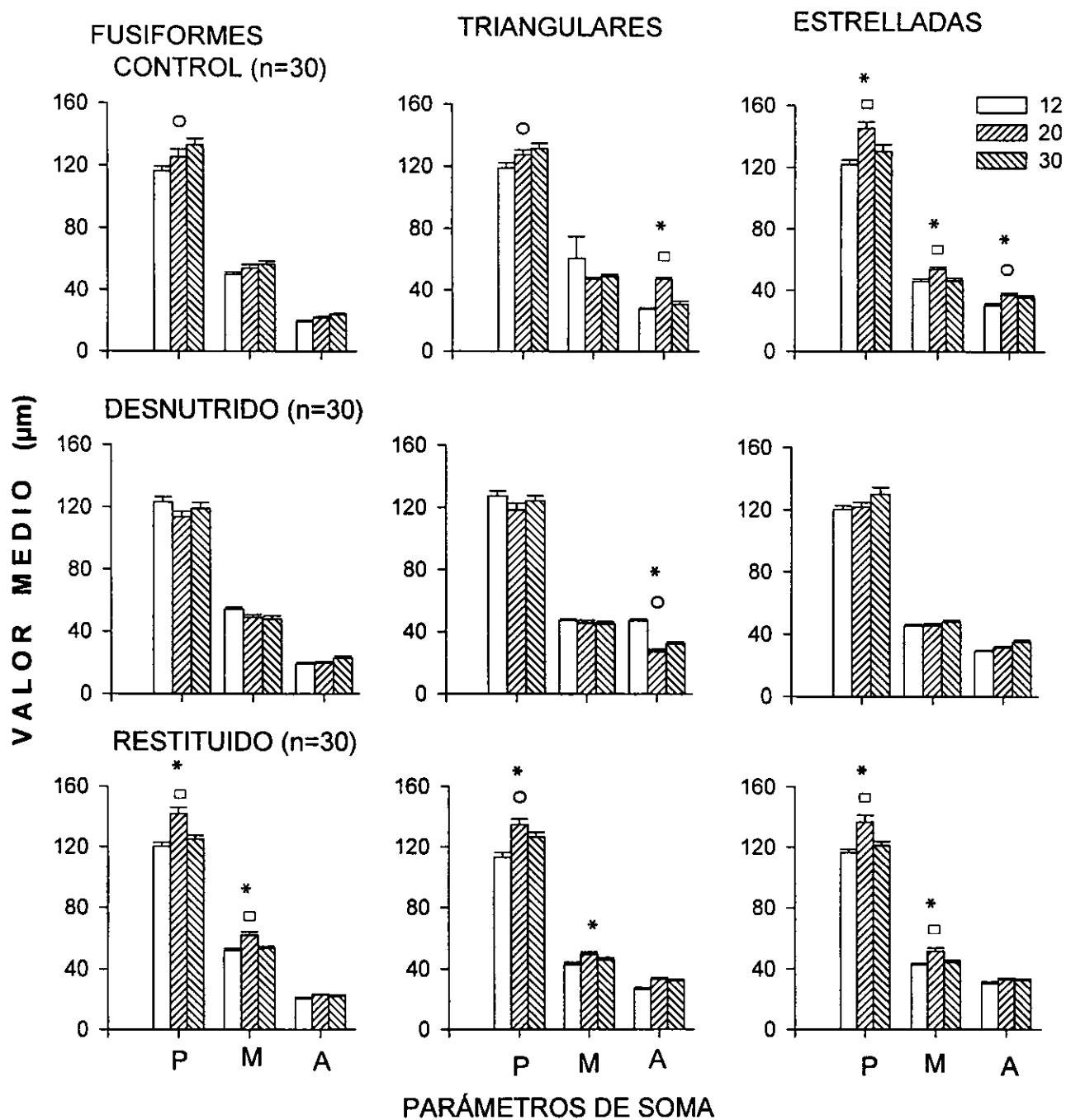


Fig. 14. Comparación por edad de las medidas promedio del perímetro (P), diámetro mayor (M) y la anchura (A), de las neuronas fusiformes, triangulares y estrelladas del núcleo motor del nervio facial, en los grupos control, desnutrido y restituido de 12, 20 y 30 días de edad. Los símbolos indican, diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los grupos: \* 12 vs 20; o 12 vs 30 y □ 20 vs 30.

## DISCUSIÓN

Los hallazgos obtenidos del presente estudio, muestran que la desnutrición perinatal tiene efectos nocivos en el crecimiento de las neuronas del NF, como lo muestran la reducción en el número de ramas dendríticas de segundo y tercer órdenes, el incremento en la extensión de las prolongaciones dendríticas de las porciones distales de los árboles dendríticos y de las alteraciones en las mediciones obtenidas de los somas neuronales del núcleo del nervio facial.

Un punto interesante que amerita discutirse en este trabajo, concierne al crecimiento limitado que muestran las neuronas del núcleo motor del nervio facial durante las primeras dos semanas postparto. En efecto de acuerdo a los resultados obtenidos el número de los órdenes dendríticos, la extensión de las ramas del árbol y de las características del soma neuronal, no sufren cambios tan marcados como otras áreas del SNC del tipo de la neocorteza y de las vías sensoriales que tienen durante este mismo período un crecimiento vertiginoso. Esta forma de crecimiento y desarrollo, es típica de las zonas del sistema nervioso que se desarrollan precozmente para cumplir con el propósito de regular funciones primitivas como es la ingesta del alimento para la sobrevivencia del recién nacido. En este sentido los hallazgos obtenidos, fortalecen el conocimiento de que el tallo cerebral y la médula espinal contienen todas las motoneuronas que participan en la regulación de la ingesta de alimento, de la secreción adrenal, de la actividad gastrointestinal y de las secreciones hepática y pancreática que acompañan a la toma de alimento (Carlson, 1916). Por otro lado, son congruentes con estudios que muestran que la sección del mesencéfalo en la rata, los casos de anencefalia en infantes y la lesión del cerebro anterior en humanos adultos, sólo limitan la capacidad para ingerir alimento (Celesia, 1993). Los hallazgos derivados del presente estudio, indican que a pesar del limitado desarrollo sensorial tanto en la rata control como en la desnutrida recién nacida, el substrato neural del tallo

cerebral incluyendo a las neuronas del núcleo motor del facial, parecen ser suficientes para que se lleven a cabo funciones que tradicionalmente son asignadas a estructuras del cerebro anterior.

Un análisis somero de los componentes asociados a la conducta alimentaria, muestra la gran variedad de respuestas y la complejidad que deben tener sus mecanismos neurales de regulación. Así por ejemplo, la ingesta de alimento puede involucrar actividades motoras tan diversas como el roer, succionar, lamer, amasar, masticar y deglutir el bolo alimenticio. En la rata recién nacida estos componentes están limitados durante las 2 primeras semanas de vida al lamido y compresión del pezón con los labios y la lengua, seguido por la succión y la deglución de la leche materna. En el recién nacido de especies altriciales los músculos responsables de estas acciones también están involucrados en actividades como el roer, amasar, masticar, toser, arquear, escupir, vomitar, vocalizar, reír y llorar entre otras. Dado que las neuronas de los núcleos motores que regulan cada uno de estos componentes no están directamente interconectadas una con otra, la generación de actividades particulares de movimiento, debe depender del ingreso al tallo cerebral de patrones de impulsos nerviosos aferentes endógenos y exógenos organizados en forma precisa en el espacio y en el tiempo, a través de neuronas premotoras ubicadas en el propio tallo cerebral. Lamentablemente y a pesar de que el tallo cerebral del recién nacido aún no completa el desarrollo de sus aferencias sensoriales, por el hecho de contener un gran número de neuronas involucradas en la regulación visceral hacia el medio interno (regulación respiratoria, cardiovascular, metabólica y refleja), ésto no ha permitido en el pasado conocer al detalle cómo se lleva a cabo la regulación de cada uno de los componentes motores de la ingesta de alimento, incluyendo la succión de leche. Los hallazgos morfométricos de deficiencia en el desarrollo de los árboles dendríticos de las neuronas del núcleo motor del nervio facial, aportan indirectamente evidencia de que el ingreso de señales aferentes al árbol dendrítico, puede ser limitado y posiblemente desordenado para afectar los procesos de integración y elaboración de respuestas, que en

última instancia determinan los movimientos involucrados en el reflejo de la succión.

Tanto de estudios derivados de la patología humana, como del análisis de las deficiencias en el desarrollo físico de los animales que son sometidos experimentalmente a la carencia de nutrimentos en la dieta, se ha establecido que el deterioro en el reflejo de la succión, es una de las principales causas del impedimento en el desarrollo morfológico y funcional del cerebro. En el presente estudio, el énfasis experimental se ha centrado en la caracterización del daño estructural a las neuronas del núcleo motor del nervio facial. Así, de los hallazgos obtenidos acerca del deterioro en el crecimiento del árbol dendrítico y del soma neuronal, es posible anticipar que está alterada la integración de los impulsos nerviosos aferentes y la elaboración de las descargas nerviosas por parte de las neuronas motoras del nervio facial.

Además de la posible deficiencia en la elaboración de las descargas motoras en las neuronas del nervio facial, se requiere también tomar en cuenta los trastornos causados por la desnutrición sobre las estructuras sensoriales del SNC, que convergen sus descargas sobre neuronas premotoras o sobre las propias neuronas del nervio facial, y además el posible deterioro en la estructura de los elementos contráctiles de los músculos orofaciales que participan en la succión del recién nacido. Con respecto a la primera posibilidad es bien conocido que la desnutrición perinatal, interfiere severamente con el desarrollo de los receptores y de las vías sensoriales aferentes que pudieran participar en el desencadenamiento de la ingesta de alimento en el recién nacido desnutrido. Así por ejemplo, se conoce que la desnutrición neonatal, retarda significativamente a nivel del bulbo olfatorio la aparición y el control modulador en el desarrollo de las respuestas provocadas por la estimulación olfatoria (Math y Davrainville, 1980). Asimismo, en el acortamiento en las latencias, y en la amplitud y complejidad de los componentes de las respuestas provocadas por la aplicación de estímulos fóticos (Mourek y col., 1967; Callison y Spencer, 1968; Salas y col., 1977) y de

las respuestas eléctricas del área somestésica de la corteza cerebral, provocadas por la estimulación a base de choques eléctricos supraumbrales aplicados al nervio ciático contralateral (Salas y Cintra, 1973).

Aunque el impacto provocado por la desnutrición perinatal sobre la maduración de las vías sensoriales auditiva y gustativa es poco conocido, también se sabe de la existencia de daño sensorial particularmente de la vía auditiva (Salas y col., 1977; Salas y col., 1994, Torrero y col., 1999). Toda esta evidencia experimental en la maduración de los potenciales eléctricos provocados, se ve fortalecida por el conocimiento que se tiene acerca del pobre depósito de la cubierta de mielina sobre los axones aferentes que integran las vías sensoriales (Davison y Dobbing, 1966; Fuller y Wiggins, 1984). Asimismo, con los hallazgos disponibles acerca del deficiente desarrollo del diámetro axonal y de la distribución de sus grosores en los nervios periféricos del tipo del ciático y del óptico de la rata, provocados por la desnutrición temprana a base de dietas hipoproteínicas e isocalóricas (Sima y Sourander, 1974; Sourander y col., 1974). Como se mencionó anteriormente, actualmente se desconocen cuales puedan ser las alteraciones provocadas por la desnutrición perinatal sobre el desarrollo de los receptores gustativos y sus vías aferentes, así como del componente visceral que emerge del estómago y de las porciones altas del intestino delgado, y que a través del nervio vago modulan el ingreso del alimento al proyectarse al núcleo del haz solitario (Norgren y Leonard, 1973; Norgren y Pfaffman, 1975; Hermann y Rogers, 1985). Sin embargo, considerando que en el presente estudio morfométrico del NF, se empleó una desnutrición prenatal y postnatal que pudo haber dañado la organización prenatal de la vía gustativa, así como, la evidencia de daño en la organización estructural de la mayoría de los sistemas sensoriales, esto permite sustentar el que la información polisensorial que participa en la ingesta de alimento pudo haberse alterado, contribuyendo así al daño del árbol dendrítico de las neuronas del nervio facial. En la literatura está plenamente fundamentado que la reducción en el calibre de las fibras nerviosas y la desmielinización de los axones aferentes, contribuye a la lenta



propagación de los impulsos nerviosos y al ingreso de las descargas de impulsos aferentes desorganizados en el espacio y en el tiempo, con un significado funcional inadecuado, para promover el desarrollo neuronal. Tal pudiera ser el caso de las neuronas de los núcleos del tallo cerebral, relacionadas con el ingreso sensorial.

Los hallazgos de un deficiente desarrollo en el árbol dendrítico de las neuronas del NF, también pudieran ser interpretados como el reflejo de una deficiente acción trófica, generada por el empobrecimiento de las señales sensoriales y posiblemente de las aferentes viscerales asociadas a la desnutrición prenatal y postnatal como se ha descrito para otras vías sensoriales (Bondy y Wei-Hua, 1993; Guroff, 1993). Existe la posibilidad de una acción trófica sobre el desarrollo del árbol dendrítico de las neuronas del NF, sobre todo considerando que la restricción experimental de alimento provoca que los niveles de los factores de crecimiento insulínicos tipo I y II y las proteínas del plasma sanguíneo a las que éstos se unen para su transporte (IGFBP 1, 2, 3 y 4) se reduzcan, limitando sus acciones sobre el tejido cerebral en crecimiento (Ketelslegers y col., 1996). Por lo tanto, se requerirá de estudios adicionales que permitan definir la posibilidad de una acción trófica en el desarrollo de los árboles dendríticos, asociada a la desnutrición perinatal. Es posible que den apoyo a esta interpretación, los experimentos en los que se ha hecho interaccionar a los recién nacidos desnutridos con la estimulación somatosensorial temprana y la exposición hacia ambientes enriquecidos sensorialmente en donde se han detectado efectos de rehabilitación conductual (Levitsky y Barnes, 1972; Salas y col., 1984; Escobar y Salas, 1987; Regalado y col., 1998), así como incrementos en el desarrollo de los árboles dendríticos y del número de espinas de neuronas ubicadas en distintas partes del SNC (Pascual y Figueroa, 1996; Pascual y col., 1998; Bhide y Bedi, 1984, 1985).

Existe la posibilidad de que las deficiencias en la succión de los animales desnutridos, pudieran estar relacionadas con el daño a los

elementos contráctiles de los músculos orofaciales concurriendo con el deterioro en los árboles dendríticos de las neuronas motoras del NF. En la clínica pediátrica se tiene bien caracterizado el síndrome de prematurez, en el que uno de los signos más consistentes es la marcada debilidad de los músculos orbiculares de los labios del prematuro para succionar. En efecto los movimientos de succión del lactante son poco frecuentes, débiles y de corta duración, de tal manera que se hace necesaria la alimentación artificial con mamila, cuchara o por sondeo, o bien a base de la administración de nutrimentos por vía endovenosa. Con respecto al empleo de modelos animales para evaluar la función muscular, se sabe que la desnutrición a base de dietas hipoproteínicas o de la reducción al 50% de la ingesta de alimento a las ratas gestantes, provoca alteraciones en el desarrollo muscular de las crías. Así se sabe que al nacimiento los recién nacidos desnutridos, muestran una reducción en el número de las fibras primarias (miotúbulos primarios) en aquellos músculos que son de contracción rápida del tipo del bíceps braquial y del extensor largo de los dedos, sin cambios importantes en la fibras primarias de los músculos de contracción lenta del tipo del músculo sóleo (Dwyer y Stickland, 1992). Por el contrario, cuando la desnutrición se instala durante el periodo neonatal, entonces lo que más se afecta es el número de fibras secundarias (miotúbulos secundarios), particularmente de los músculos de contracción rápida (Bedi y col., 1982; Wilson y col., 1988). Aunque en el presente estudio no se analizaron los impactos provocados por la desnutrición prenatal y postnatal, sobre el desarrollo de los músculos orofaciales que participan en la succión del recién nacido, sin embargo, indirectamente fue posible comprobar los efectos nocivos de una deficiente succión sobre el desarrollo físico de los animales desnutridos. De esta manera la baja consistente en los pesos cerebral y corporal, la reducción en la talla y el retardo de dos a tres días en la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados que se observaron en los animales desnutridos, pudieran ser una secuela de la deficiencia en el reflejo de la succión. Por otra parte, de estudios preliminares recientes realizados en nuestro laboratorio se ha

caracterizando los accesos de succión de los animales desnutridos neonatalmente, hemos observado que en registros de 10 minutos de succión empleando una mamila artificial, estos animales tienen latencias más largas para iniciar las succiones, el número de ellos es menor, su duración es más corta y el intervalo entre ellos es más prolongado comparado con los valores de sus testigos correspondientes (Torrero y col., 1998).

Los hallazgos obtenidos en el desarrollo físico de los animales desnutridos y las alteraciones en los accesos de succión en los mismos, revisten gran interés en el contexto del daño causado por la desnutrición sobre el tipo de músculo esquelético (Dwyer y Stickland, 1992). Los músculos orofaciales, pertenecen al tipo de músculos de contracción rápida que tienen escasas unidades motoras y fibras musculares con menor número de mitocondrias y escasa mioglobina. Funcionalmente, estos músculos se encuentran involucrados en la ejecución de movimientos rápidos y finos de los que dependen acciones motoras precisas y delicadas como es el caso de la expresión facial, la succión, el roer, el masticar, etc., el hecho de que los músculos orofaciales de contracción rápida sean los más afectados por la desnutrición perinatal, y que a la vez éstos se encuentren conectados con las motoneuronas del nervio facial, le da mayor significancia a los resultados consignados en este trabajo. En este sentido el haber corroborado la existencia de daño al componente neural eferente del núcleo del nervio facial, que regula parcialmente la contracción de los músculos orofaciales, permita parcialmente explicar las deficiencias en el reflejo de succión asociadas a la desnutrición perinatal. Apoya lo anterior el que la axotomía del NF, provoca degeneración del mismo, lo que sugiere que la dependencia del músculo y del nervio es vital para la contracción muscular (Zilles, 1978).

La forma del soma neuronal es una de características más singulares de las estructuras del sistema nervioso. El hecho de que una neurona puede conservar su morfología somática de manera consistente dentro de una

estirpe celular, permite considerarla como una estructura rígida cuya forma está determinada principalmente por factores genéticos. Los escasos cambios plásticos observados en la morfología del soma de las neuronas del NF de ratas desnutridas, sugieren que los somas neuronales son protegidos al máximo ante condiciones microambientales extremas. Las neuronas del NF de las ratas de 12 días de edad, son las que muestran los menores cambios debido quizá a que se encuentran en un período de grandes cambios en el crecimiento, que bien podrían estar relacionados con procesos de aumento o de disminución del tamaño del soma asociados con movimientos amiboides de reacomodo durante el crecimiento postnatal temprano de las neuronas del NF, similares a los descritos para otras estructuras del cerebro (Cowan, 1979, Ruíz-Marcos y Valverde, 1969; Andrade y col., 1996). Como se observa en la sección de resultados del presente estudio, los mayores cambios en la morfología del soma se presentan en las neuronas fusiformes y estrelladas de las ratas de 20 días de edad. Las neuronas del NF, de las ratas de 30 días postparto presentan menores cambios en comparación con las de 20 días de edad, lo cual sugiere que los cambios morfológicos se muestran de manera diferente en los tres tipos neuronales, debido posiblemente a las alteraciones en el patrón de crecimiento de las neuronas en los grupos desnutridos. Esto último sugiere que la desnutrición perinatal pudiera desfazar, la expresión de procesos de crecimiento relativamente rígidos, que pueden ser susceptibles de regularse tempranamente por factores ambientales. Asimismo, que con el aumento en la edad estos procesos de crecimiento son más vulnerables a las influencias epigenéticas microambientales.

Las neuronas del grupo restituido, muestran recuperación en el tamaño del soma, sin embargo, es necesario hacer estudios, que permitan conocer en que grado se logra la recuperación funcional. El aumento de tamaño, podría estar relacionado con la recuperación en el aumento de factores promotores del crecimiento nervioso, que podrían estar disminuidos en el animal desnutrido como antes se mencionó. Las alteraciones funcionales de las

neuronas del NF podrían tener como consecuencia una disminución en el área de recepción de señales, y que finalmente participará en la integración de las respuestas que en última instancia intervienen en las características funcionales de la integración de la unión neuromuscular. Se conoce que en la unión neuromuscular juegan un importante papel tanto las estructuras nerviosas como las musculares y que una región depende mutuamente de la otra. Se conoce por ejemplo que la parte muscular produce factores de crecimiento, los cuales juegan un papel importante durante el desarrollo del sistema nervioso y participan en su mantenimiento durante el estado adulto. Como información adicional se sabe que la desnutrición, modifica la relación de fibras de actina y miosina en la fibra muscular y que los músculos de actividad rápida entre los que se clasifican los músculos orofaciales presentan mayores alteraciones. Los resultados sugieren que la rata desnutrida, pudiera presentar una placa neuromuscular que muestra limitaciones en su eficacia funcional comparada con la del organismo nutrido adecuadamente, y que por lo tanto la contracción muscular de la rata desnutrida sea débil y lenta como ha sido descrita para el humano prematuro. Considerando por supuesto que la desnutrición prenatal produce un organismo prematuro según los resultados de varios estudios (Altman y col., 1971; Winick, 1979; Morgane y col., 1993). La ineficacia funcional de la unión neuromuscular repercute en la capacidad del organismo para succionar, y si además el desnutrido no consume la cantidad adecuada de leche experimenta una desnutrición secundaria y por lo tanto, siempre estará en desventaja en comparación con el control. Asimismo, es probable que los cuidados de la madre que son fuente importante de estimulación sensorial, se encuentren disminuidos dada la importancia de la interacción madre-cría en la conducta maternal, debido a que los estímulos que recibe la madre de la cría desnutrida no favorecen la interacción normal (Franková, 1973; Smart y Preece, 1973).

Finalmente, es posible que la desnutrición pre y posnatal utilizada en el presente trabajo sea un factor perinatal importante, susceptible de generar

prematurez en los recién nacidos, lo cual ya ha sido considerado por otros investigadores, para el caso del ser humano. Sin embargo, aún quedan por resolverse numerosos interrogantes acerca de los mecanismos neuromusculares que regulan la ingesta temprana de alimento tanto en el sujeto normal como en el desnutrido.

## **CONCLUSIONES**

1.- Las ramas dendríticas de orden primario presentan cierta resistencia a los efectos de la desnutrición perinatal, es decir el patrón general que tipifica a la neurona se mantiene con pocos cambios ante factores adversos como lo es la desnutrición pluricarencial.

2.- Las ramas de tercer orden del árbol dendrítico de las neuronas del NF, son las principalmente afectadas por la desnutrición aquí empleada en todos los tipos de neuronas. Este hecho podría sugerir que las alteraciones morfológicas interfieren con la función neuronal, lo cual puede reflejarse en una deficiente integración neural.

3.- La extensión del árbol dendrítico disminuye a causa de la desnutrición perinatal, en las neuronas fusiformes en tanto que en las triangulares aumenta, lo cual sugiere que cada tipo de neurona estudiada, presenta distinta respuesta a la influencia de la desnutrición. Estos cambios debidos a la desnutrición pudieran relacionarse con el desfasamiento en el crecimiento neuronal. De tal manera que las dendritas de las neuronas del NF del animal desnutrido, en condiciones anormales crecen cuando deberían presentar reabsorción o ser relativamente estables.

4.- Las dimensiones del soma y del árbol dendrítico, disminuyeron a causa de la desnutrición perinatal en algunos de sus parámetros principalmente a los 20

prematurez en los recién nacidos, lo cual ya ha sido considerado por otros investigadores, para el caso del ser humano. Sin embargo, aún quedan por resolverse numerosos interrogantes acerca de los mecanismos neuromusculares que regulan la ingesta temprana de alimento tanto en el sujeto normal como en el desnutrido.

## **CONCLUSIONES**

1.- Las ramas dendríticas de orden primario presentan cierta resistencia a los efectos de la desnutrición perinatal, es decir el patrón general que tipifica a la neurona se mantiene con pocos cambios ante factores adversos como lo es la desnutrición pluricarencial.

2.- Las ramas de tercer orden del árbol dendrítico de las neuronas del NF, son las principalmente afectadas por la desnutrición aquí empleada en todos los tipos de neuronas. Este hecho podría sugerir que las alteraciones morfológicas interfieren con la función neuronal, lo cual puede reflejarse en una deficiente integración neural.

3.- La extensión del árbol dendrítico disminuye a causa de la desnutrición perinatal, en las neuronas fusiformes en tanto que en las triangulares aumenta, lo cual sugiere que cada tipo de neurona estudiada, presenta distinta respuesta a la influencia de la desnutrición. Estos cambios debidos a la desnutrición pudieran relacionarse con el desfasamiento en el crecimiento neuronal. De tal manera que las dendritas de las neuronas del NF del animal desnutrido, en condiciones anormales crecen cuando deberían presentar reabsorción o ser relativamente estables.

4.- Las dimensiones del soma y del árbol dendrítico, disminuyeron a causa de la desnutrición perinatal en algunos de sus parámetros principalmente a los 20

y 30 días de edad. Las neuronas de los animales de 12 días de edad fueron los que mostraron menores cambios significativos debidos a la condición de nutrición

5.- Las alteraciones morfológicas producidas por la desnutrición perinatal son más notables en el árbol dendrítico, ésto refuerza el conocimiento que se tiene de que esta zona de las neuronas, tiene mayor vulnerabilidad en comparación con el soma neuronal.

6.- Las alteraciones morfológicas en las neuronas del NF producidas por la desnutrición perinatal, pueden ser en parte la causa de los cambios en la vigorosidad para succionar en los sujetos desnutridos descritos en otros estudios.

7.- La restitución nutricional perinatal como un procedimiento para revertir los efectos de la desnutrición, los hallazgos del presente trabajo sugieren que la restitución de alimento puede ser de gran utilidad para atenuar el daño neuronal y la función cerebral alteradas en organismos que han sido expuestos a desnutrición prenatal, postnatal o ambas.



## REFERENCIAS

- Aghajanian, G. K., McCall, R. B. Serotonergic synaptic input to facial motoneurons: Localization by electron-microscopic autoradiography. *Neuroscience*, 5: 2155-2162, 1980.
- Aghajanian, G. K., Vandermaelen, C. P. Specific systems of the reticular core: Serotonin. En: F. E. Bloom (Ed.), *Handbook of physiology, Section I: The nervous system*, Vol. IV. Intrinsic regulatory systems of the brain. Bethesda Md. American Physiological Society, 237-256, 1980.
- Altman J., Bayer, S. Development of the brain stem in the rat. II Thymidine-radiographic study of the time of origin of neurons of the upper medulla, excluding the vestibular and auditory nuclei. *J. Comp. Neurol.* 193: 37-56, 1980.
- Altman, J., Sudarshan, k., Dass, G. D., McCormick, N., Barnes, D. The influence of nutrition on neuronal and behavioral development III. Development of some motor, particularly locomotor patterns during infancy. *Dev. Psychobiol.* 3: 97-113, 1971.
- Andrade, J. P., Castanheira-Vale, P. G., Paz-Dias, Madeira, M. D., Paula-Barbosa, M. M. The dendritic trees of neurons from the hippocampal formation of protein-deprived adult rats. A quantitative Golgi study. *Exp. Brain Res.* 109: 419-433, 1996.
- Anokhin, P.K. Systemogenesis as a general regulator of brain development. En: Himwich, W. A., Himwich, H. E. (Eds.) *The developing Brain. Progr. Brain Res.* 9: 54-86, 1964.
- Bass, N. H., Netsky, M.G., Young, E. Effect of neonatal malnutrition on developing cerebrum. J. Microchemical and histologic study of cellular differentiation in the rat. *Arch. Neurol. Chicago.* 23: 289-302, 1970.
- Bedi, K. S., Birzgalis, A. R., Mahon, M., Smart, J. L., Wareham, A. C. Early life undernutrition in rats. 1. Quantitative histology of skeletal muscles from underfed young and refeed adult animals. *Br. J. Nutr.* 47: 417-430, 1982.
- Bhide, P. G., Bedi, K. S. The effects of environmental diversity on well-fed and previously undernourished rats: Neuronal and glial cell measurements in the visual cortex (area 17). *J. Anat.* 138: 447-461, 1984.
- Bhide, P. G., Bedi, K. S. The effects of a 30 day period of environmental diversity on well-fed and previously undernourished rats: Neuronal and synaptic measures in the visual cortex (area 17). *J. Comp. Neurol.* 236: 121-126, 1985.

Bondy, A. B., Wei-Hua, L. Patterns of insuline-like growth factor and IGF receptor gene expression in the brain. En: M. K. Raizada y D. Le Roith (Eds.). *The Role of Insulin-like Growth Factors in the Nervous System. Ann. N. Y. Acad. Sci. V. 692.* pp. 33-43, 1993.

Brake S. C., Shair, H., Hofer, M. A. Exploiting the Nursing Niche. Handbook of Behavioral Neurobiology (Adler N. T. Editor general) Vol. 9. (Blass, M. E. Editor). *Developmental Psychobiology and Behavioral Ecology.* 337-338 pp. 1988.

Brodal, A. The reticular formation of the brain stem. Anatomical aspects and functional correlations. *The Henderson Trust Lecture.* Oliver and Boyd. Edimburgo. 1957.

Cajal, S. R. Histología del sistema nervioso. Imprenta y Librería de Nicolás Moya. Madrid, España. pp 171-183, 1992.

Callison, D. A., Spencer, J. W. Effect of chronic undernutrition and/or visual deprivation upon the visual evoked potential from the developing rat brain. *Dev. Psychobiol.* 1: 196-203, 1968.

Carlson, A. J. The control of hunger in heath and disease. Chicago. The University of Chicago Press. 1916.

Celesia, G. G. Persistent vegetative state. Report of the American Neurological Association Committee on Ethical Affairs. *Annals of Neurology.* 33: 386-390, 1993.

Cintra, I., Díaz-Cintra, S., Galván, A., Morgane, P. J. Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Bol. Estud. Méd. Biol., Méx.* 36: 3-7, 1988.

Cintra, L., Granados, L., Aguilar, A., Kemper. T., Debassio, W., Galler, J., Morgane, P., Durán, P., Díaz-Cintra, S. Effects of prenatal protein malnutrition on mossy fibers of the hippocampal formation in rats of four age groups. *Hippocampus.* 7: 184-191, 1997.

Courville, J. The nucleus of the facial nerve: The relation between cellular groups and peripheral branches of the nerve. *Brain Res.* 1: 338-353, 1966.

Cowan, W. M. The development of the brain. *Sci. Am.* 241: 112-133, 1979.

Cragg, B. G. The development of cortical synapses during starvation in the rat. *Brain.* 95: 133-150. 1972.

Crosby, E. C., Humphrey, T, Lauer, E. W. Correlative anatomy of the nervous system. The Macmillan Company, New York. pp. 161-165, 1962.

Davidoff, M. S., Irintchev, A. P. Acetylcholinesterase activity and type C synapses in the hypoglossal, facial and spinal-cord motor nuclei of rats. *Histochemistry*. 84: 515-524, 1986.

Davison, A. N., Dobbing, J. Myelination as a vulnerable period in brain development. *Br. Med. Bull.* 22: 40-44, 1966.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O., Morgane, P. J. The nucleus raphe dorsalis: A morphological Golgi study in rats of three age-groups. *Brain Res.* 207: 1-16, 1981a.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O., Morgane, P. J. The effects of protein deprivation on the nucleus raphe dorsalis: A morphometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain Res.* 221: 243-255, 1981b.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Ortega, A., Morgane, P. J. The effects of protein deprivation on the nucleus locus coeruleus: A morphometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain Res.* 304: 242-253, 1984.

Díaz-Cintra, S., García-Ruíz, M., Cokidi, G., Cintra, L. Effects of prenatal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of four ages. *Brain Res.* 662: 117-126, 1994.

Dobbing, J. Vulnerable period of brain development. En: *Lipids, malnutrition and the developing brain*. Elsevier/Excerpta Medica/ North Holland, Amsterdam. pp. 9-29, 1972.

Dobbing, J., Sands, J. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum. Dev.* 3: 79-83, 1979.

Drewett, R. F., Statham, C., Wakerley, J. B. A quantitative analysis of the feeding behavior of suckling rats. *Anim. Behav.* 22: 907-913, 1974.

Dwyer, C. M., Stickland, N. C. Does the anatomical location of a muscle affect the influence of undernutrition on muscle fiber number? *J. Anat.* 181: 373-376, 1992.

Edwards, S. B. The ascending and descending projections of the red nucleus in the cat. An experimental study using an autoradiographic tracing method. *Brain Res.* 38: 35-63, 1972.

Epstein, A. N. The ontogeny of neurochemical systems for control of feeding and drinking. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 175: 127-134, 1984.

Epstein, A. N. The ontogeny of ingestive behaviors: Control of milk intake by suckling rats and the emergence of feeding and drinking at weaning. En: R.

Ritter, S. Ritter., C. D. Barnes (Eds.). *Neural and humoral controls of food intake* (pp. 1-25). San Diego, CA. Academic Press. 1986.

Escobar, C., Salas, M. Ameliorating effects of early sensory stimulation on the behavior of adult rats underfed during the lactating period. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 35: 195-202, 1987.

Escobar, C., Salas, M. Neonatal undernutrition and amygdaloid nuclear complex development. An experimental study in the rat. *Exper. Neurol.* 122: 311-318, 1993.

Escobar, C., Salas, M. Dendritic branching of claustral neurons in neonatally undernourished rats. *Biol. Neonate.* 68:47-54, 1995.

Finley, J. C. W., Maderdrut, J. L., Petrusz, P. The immunocytochemical localization of enkephalin in the central nervous system of the rat. *J. Comp Neurol.* 198: 541-565, 1981.

Forbes, W., Stern, W. C., Bronzino, J. D., Resnick, O., Morgane, P. J. Effect of chronic malnutrition on non-specific thalamo cortical evoked potentials in the rat. *Physiol. Behav.* 14: 655-658, 1975.

Fort, P., Sakai, K., Luppi, P-H., Salvat, D., Jouvet, M. Monoaminergic, peptidergic, and cholinergic afferents to the cat facial nucleus as evidenced by double immunostaining method with unconjugated cholera toxin as a retrograde tracer. *J. Comp. Neurol.* 301 : 262-275, 1989.

Franková, S. Relationship between nutrition during lactation and maternal behavior of rats. *Activitas Nervosa Superior (Praha).* 13: 1-8, 1973.

Friedman, M. I. Some determinants of milk ingestion in suckling rats. *J. Comp. Neurol.* 89: 636-637, 1975.

Fuller, G., Wiggins, R. Brain hypomyelination during postnatal undernourishment: a comparison of proteolipid synthesis versus assembly into membrane. *Exper. Neurol.* 84: 306-313, 1984.

Ganchrow, J. R., Steiner, J. E., Caneto, S. Behavioral displays to gustatory stimuli in newborn rat pups. *Dev. Psychobiol.* 19: 163-173, 1986.

García-Ruiz, M., Díaz-Cintra, S., Corkidi, G. Effects of protein malnutrition on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of three ages. *Brain Res.* 625: 203-212, 1993.

Golubeva, E. L. Sequence of myelination of nerve facialis in embryogenesis of human beings. En: G. Silov, V. Schidlovsky (Eds). *Problems of General*

*Neurophysiology and Higher Nervous Activity* (pp101-116). Moscow, Medgiz. 1961.

Gramsberger, A., Westerga, J. Locomotor development in undernourished rats. *Behav. Brain. Res.* 48: 57-64, 1992.

Gressens, P., Séverin, M. M., Besse, L., Nsegbe, E., Gallego, J., Delpech, B., Gaultier, C., Evrard, P., Ketelslegers, J-M., Maiter, D. Maternal protein restriction early in rat pregnancy alters brain development in the progeny. *Dev. Brain Res.* 103: 21-35, 1997.

Grunau, R. V. E., Graig, K. D. Pain expression in neonates: facial action and cry. *Pain.* 28: 305-310, 1978.

Guroff, G. Nerve growth factor as a neurotrophic agent. En: M. K. Raizada y D. Le Roith (eds.). *The Role of Insulin-like Growth Factors in the Nervous System.* *Ann. N. Y. Acad. Sci.* V. 692. pp. 51-59, 1993.

Hall, W. G. The ontogeny of ingestion behavior. En: E. M. Stricker (Ed.). *Handbook of behavioral Neurobiology.* Vol. 10. Neurobiology of food and fluid intake pp. 77-123. New York. Plenum Press. 1990.

Hall, W. G., Williams C. L. Suckling isn't feeding or is it ? A search for developmental continuities. *Advances in the study of behavior.* 13: 218-254, 1983.

Hammer, R. P. Jr., Lindsay, R. D., Scheibel, A. B. Development of the brain stem reticular core: an assessment of dendritic state and configuration in the perinatal rat. *Dev. Brain Res.* 1: 179-190, 1981.

Hammer, R. P. Jr., Marthens, E. Morphological development of the brain stem reticular core in prenatally undernourished rats. *Dev. Brain Res.* 1: 203-212, 1981.

Hermann, G. E., Rogers, R. C. Convergence of vagal and gustatory efferent input within the parabrachial muscles of the rat. *J. Auton. Nerv. Syst.* 13: 1-17, 1985.

Hernández, R. *Manual de Pediatría.* Asociación Mexicana de Estudios de Farmacología, México, pp 247-324, 1954.

Herring, S. W. The ontogeny of mammalian mastication. *American Zoologist.* 25: 339-349, 1985.

Jacobson, M. Formation of dendrites and development of synaptic connections. En: *Developmental Neurobiology.* D. E. Jones (Ed.) Holt, Rinehart and Winston, Inc. pp. 223- 283, 1978.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Ketelslegers, J-M., Meiter, D., Maes, M., Underwood, L. E., Thissen, J-P. Nutritional regulation of the growth hormone and insulin-like growth factor-binding proteins. *Horm. Res.* 45: 252-257, 1996.

Levitsky, D. A., Barnes, R. H. Nutritional and environmental interactions in the behavioral development of the rat: Long-term effects. *Science.* 176: 68-71, 1972.

Lewis, P. D., Balász, R., Patel, A. J., Johnson, A. L. The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. *Brain Res.* 83: 235-247, 1975.

Lynch, A. Postnatal undernutrition: an alternative method. *Dev. Psychobiol.* 9: 39-48, 1976.

MacFarlane, B. A., Pedersen, P. E., Cornell, C. E., Blass, E. M. Sensory control of suckling-associated behaviours in the domestic Norway rat, *Rattus norvegicus*. *Anim. Behav.* 31: 462-471, 1983.

Martin, M. R., Lodge, D. Morphology of the facial nucleus of the rat. *Brain Res.* 123: 1-12, 1977.

Math, F., Davrainville, J. L. Electrophysiological study of the postnatal development of mitral cell activity in the rat olfactory bulb: Influence of undernutrition. *Brain Res.* 194: 223-227, 1980.

Mourek, J., Himwich, W. R., Myslivecek, J., Callison, D. A. The role of nutrition in the development of evoked cortical responses in rat. *Brain Res.* 6: 241-251, 1967.

Morgane, P. J., Austin-La France, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Galler, J. R. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosci. Biobehav.* 17: 91-128, 1993.

Norgren, R., Leonard, C. M. Ascending central gustatory pathways. *J. Comp. Neurol.* 150: 217-238, 1973.

Norgren, R., Pfaffman, C. The pontine taste area in the rat. *Brain Res.* 91: 99-117, 1975.

Palkovits, M., Brownstein, M., Saavedra, J. M. Serotonin content of the brain stem nuclei in the rat. *Brain Res.* 80: 237-239, 1973.

Pascual, R., Figueroa, H. R. Effects of preweaning sensorimotor stimulation on behavioral development in motor and visual cortex of the rat. *Biol. Neonate.* 69: 399-404, 1996.

- Pascual, R., Hervias, M., Tohá, M. E., Valero, A., Figueroa, H. R. Purkinje cell impairment induced by early movements restriction. *Biol. Neonate*. 73: 47-51, 1998.
- Paxinos, G., Watson, Ch. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, 2ª Edición New York. 119 pp, 1986.
- Ramón-Moliner, E., Nauta, W. J. H. The isodendritic core of the brain stem. *J. Comp. Neurol.* 126: 311-335, 1966.
- Ramón-Moliner, E. The Golgi-Cox Technique. En: Contemporary Research Methods in Neuroanatomy (Nauta, S. A., Ebbenson, S. O. E. Eds.), pp. 32-55. Springer Verlag, New York. 1970.
- Rasmussen, K., Aghajanian, G. K. Serotonin excitation of facial motoneurons: Receptor subtype characterization. *Synapse*. 5: 323-332, 1990.
- Regalado, M., Torrero, C., Salas, M. Maternal responsiveness of neonatally undernourished and sensory stimulated rats: Rehabilitation of maternal behavior. *Nutr. Neurosci.* (En Prensa) 1998.
- Royland, J., Gregory, W. K., Makoto, K. Y., Richard, C. W. Down regulation of myelin-specific mRNAs in the mechanism of hypomyelination in the undernourished developing brain. *Dev. Brain Res.* 65: 223-226, 1992.
- Ruiz-Marcos, A., Valverde, F. The temporal evolution of the distribution of dendritic spines in the visual cortex of normal and dark raised mice. *Exp. Brain Res.* 8: 284-294, 1969.
- Salas, M. Effects of early malnutrition on the development of swimming ability in the rat. *Physiol. Behav.* 8: 119-122, 1972.
- Salas, M., Cintra, L. Nutritional influences upon somatosensory evoked responses during development in the rat. *Physiol. Behav.* 10: 1019-1022, 1973.
- Salas, M., Díaz, S., Nieto, A. Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Res.* 73: 139-144, 1974.
- Salas, M., Cintra, L. Development of the electrocorticogram during starvation in the rat. *Physiol. Behav.* 13: 587-593, 1975.
- Salas, M., Díaz, S., Cintra, L. Thyroid and nutritional influence on electrocortical activity development. En: G. D. Grave (Ed.) *Thyroid Hormones and Brain Development*. Raven Press. New York. pp. 255-267, 1977.

- Salas, M., Torrero, C., Pulido, S. Long-term alterations in the maternal behavior of neonatally undernourished rats. *Physiol. Behav.* 33: 273-278, 1984.
- Salas, M., Torrero, C., Pulido, S. Undernutrition induced by early pup separation delays the development of the thalamic reticular nucleus in rats. *Exper. Neurol.* 93: 337-355, 1986.
- Salas, M., Pulido, S., Torrero, C., Escobar, C. Neonatal undernutrition and self-grooming development in the rat: Long-term effects. *Physiol. Behav.* 50: 567-572, 1991.
- Salas, M., Ruíz, C., Torrero, C., Pulido, S. Neonatal food restriction: its effects on the sleep cycles and vigil behavior of adult rats. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 32: 209-215, 1983.
- Salas, M., Pulido, S., Torrero, C., Regalado, M., Loranca, A. Hair growth in neonatally undernourished rats. *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.* 43: 13-18, 1995.
- Salas, M., Torrero, C., Regalado, M., Martínez-Gómez, M., Pacheco, P. Dendritic arbor alterations in the medial superior olivary neurons of neonatally underfed rats. *Acta Anat.* 151: 180-187, 1994.
- Senba, E., Tohyama, M. Leucine-enkephalin-containing neuron system in the facial nucleus of the rat with special reference to its fine structure. *Brain Res.* 273: 17-23, 1983a.
- Senba, E., Tohyama, M. Reticulo-facial enkephalinergic pathway in the rat: An experimental immunohistochemical study. *Neuroscience.* 10: 831-839, 1983b.
- Scheibel, M. E., Davies, T. L., Scheibel, A. B. Maturation of reticular dendrites: loss of spines and development of bundles. *Exper. Neurol.* 38: 301-310, 1973.
- Schulze, K. J., Rasmussen, M. Nutritional status, suckling behavior, and prolactin release during lactation. *Physiol. Behav.* 53: 1015-1019, 1993.
- Sharma, S. K., Nayar, M. C., Maheshwari, S. B. Effect of undernutrition of developing rat cerebellum. Some electrophysiological and neuromorphological correlates. *J. Neurol. Sci.* 78: 261-272, 1987.
- Sherwood, N. M., Timiras, P. S. A Stereotaxic Atlas of the Developing Rat Brain. Berkeley, University of California Press. 209 pp, 1970.
- Sholl, D. A. The organization of the neurons of the cerebral cortex. New York, Hafner. 1956.



- Sima, A., Sourander, P. The effect of early undernutrition on the calibre spectrum of the rat optic nerve. *Acta Neurophathol. (Berl.)*. 28: 1-10, 1974.
- Smart, J. L., Preece, J. Maternal behavior of undernourished mother rats. *Anim. Behav.* 21: 613-619, 1973.
- Steinbusch, H. W. M. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neuroscience*. 6: 557-618, 1981.
- Sourander, P., Sima, A., Haltia, M. Malnutrition and morphological development of the nervous system. *Symposia of Swedish Nutrition Foundation XII*. pp. 39-54, 1974.
- Tanaka, T., Tekunchi, Y., Nakamo, K. Cells of origin of the spinofacial pathway in the cat: A horseradish peroxidase study. *Brain Res.* 132: 580-585, 1978.
- Teicher, M.H., Blass, E. M. First suckling response in the newborn albino rat. The roles of olfaction and amniotic fluid. *Science*. 198: 635-636, 1977.
- Torrero, C., Regalado, M., Calixto, B., Arenas, J., Salas, M. Efecto de la desnutrición neonatal en el desarrollo del núcleo motor del facial. XXXVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Acapulco, Guerrero, Méx. C68, 1993.
- Torrero, C., Regalado, M., Pérez-Torrero, E., Salas, M. Características de la succión de ratas normales y desnutridas durante el período neonatal. XLI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. C68, 1998.
- Torrero, C., Regalado, M., Pérez, E., Loranca, A., Salas, M. Effects of neonatal undernutrition and binaural ear occlusion on neuronal development in the superior olivary complex of rats. *Biol. Neonate*. 75: 259-271, 1999.
- Travers, J. B., Norgren, R. Afferent projections to the oral motor nuclei in the rat. *J. Comp. Neurol.* 220: 280-298, 1993.
- Wakerley, J. B., Clarke, G., Summerlee, A. J. S. Milk ejection and its control. Knobil, E., Neill, J. D. (Eds.). *The Physiology of Reproduction*. Raven Press. New York. 1131-1177, 1993.
- Wakerley, J. B., Drewitt, R. F. Pattern of sucking in the infant rat during spontaneous milk ejection. *Physiol. Behav.* 15: 277-281, 1975.
- Westneat, N. W., Hall, W. G. Ontogeny of feeding motor patterns in infant rats: An electromyographic analysis of suckling and chewing. *Behav. Neurosci.* 106: 539-554, 1992.

Wilson, S. J., Ross, J. J., Harris, A. J. A critical period for formation of secondary myotubes defined by prenatal undernourishment in rats. *Development*. 102: 815-821, 1988.

Winick, M. Malnutrition and mental development. En: M. Winick (Ed.). *Nutrition pre and postnatal development*. Columbia University. Plenum Press. New York. pp. 31-59, 1979.

Woodall, S. M., Breier, B. H., Johnston, B. M., Gluckman, P. D. A model intrauterine growth retardation caused by chronic maternal undernutrition in the rat: effects on the somatotrophic axis and postnatal growth. *J. Endocrinol.* 150: 231-242, 1996.

Zilles, K. Automatic morphometric analysis of retrograde changes in nucleus facialis at different stages in the rat. *Cell. Tiss.* 190: 285-299, 1978.