



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

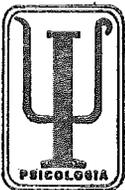
FACULTAD DE PSICOLOGÍA

EFFECTOS DE LA DESNUTRICION PRE Y
POSNATAL SOBRE LAS CELULAS
GRANULARES DEL GIRO DENTADO DEL
HIPOCAMPO DE LA RATA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN PSICOLOGIA
P R E S E N T A :
FRANCISCA GABRIELA PADUA NUÑEZ

M-0061565

Director de la Facultad Dr. J. José Sánchez Sosa
Asesor de Tesis Dr. León Cintra MC Glone



México, D. F.

1 9 8 7



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

U. N. A. M.

FACULTAD DE

PSICOLOGIA

DEPARTAMENTO DE PSICOFISIOLOGIA

EFFECTOS DE LA DESNUTRICION PRE Y POSNATAL SOBRE LAS CELULAS
GRANULARES DEL GIRO DENTADO DEL HIPOCAMPO DE
LA RATA.

ALUMNA: FRANCISCA GABRIELA PADUA NUREZ

DIRECTOR DE LA FACULTAD

DR. J. JOSE SANCHEZ SOSA

ASESOR DE TESIS

DR. LEON CINTRA MC GLONE.

MEXICO, D.F.

DICIEMBRE 1987

14/26

TPS-4476

RECONOCIMIENTO

El presente trabajo de tesis se realizó en el departamento de Fisiología del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, con el apoyo de una beca "Tesis de Licenciatura", registro 52956 de CONACYT. México, D.F.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. León Cintra Mc Glone y a la Dra. Sofia Díaz Miranda por su asesoría y gran ayuda en la elaboración de la presente tesis.

A los Drs. Manuel Salas, Alfonso Escobar, Carlos Contreras y José María Calvo, por la revisión del manuscrito, sus consejos y sugerencias.

A mis compañeros del laboratorio por su valiosa ayuda.

~~A los profesores Efraín Mendoza, y Antonio Gayosso, por el apoyo y facilidades prestadas.~~

DEDICATORIA

Con admiración y respeto a mis padres Teodora y Rodolfo.

A mis hermanos Rodolfo, Mónica y Perseo.

Con cariño a mi abuelita Francisca.

INDICE

RESUMEN	I
INTRODUCCION	1
CAPITULO I: HIPOCAMPO	
A. Estructura	2
B. Funciones	2
CAPITULO II: GIRO DENTADO	
A. Localización	3
B. Citoarquitectura	4
C. Características funcionales de las células granulares	5
D. Vías aferentes y eferentes	6
E. Desarrollo del GD	9
F. Influencias ambientales sobre el desarrollo de las células granulares	10
CAPITULO III. DESARROLLO NEURONAL Y DESNUTRICION	10
A. Efectos conductuales de la desnutrición	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
OBJETIVOS	18
HIPOTESIS	19
MATERIAL Y METODOS	20
A. Obtención de datos	21
B. Tratamiento de datos	22

M-0061565

RESULTADOS	23
.....	23
A. Cambios en el tamaño del soma	23
B. Cambios en la extensión lineal	24
C. Cambios en la densidad dendrítica	24
D. Cambios cualitativos del árbol dendrítico de las células granulares del giro dentado	25
E. Cambios en la densidad de las espinas dendríticas	25
F. Cambios producidos por la edad	25
G. Alteraciones conductuales en la rata desnutrida	26
DISCUSION	29
.....	29
CONCLUSIONES	35
.....	35
REFERENCIAS	37
.....	37

RESUMEN

Por estudios previos se sabe que el hipocampo es afectado por la desnutrición, lo que se manifiesta por una reducción permanente del número de células en los campos CA1, CA3, CA4 y de las células granulares del giro dentado (GD). Así, también se sabe que a nivel conductual la desnutrición temprana produce a largo plazo una reducción de la capacidad exploratoria, alteraciones en la discriminación espacial, la memoria, en la habilidad para aprender y en la coordinación motora. El objetivo del presente trabajo fué el estudiar los efectos de la desnutrición proteínica instalada pre y posnatalmente (en ratas macho de 3 edades) sobre las células granulares del GD, mediante un análisis morfométrico comparativo, en el cual se tomaron las siguientes mediciones celulares: eje mayor y menor del soma, campo dendrítico (método de Sholl), densidad de espinas en tres segmentos (inicial, medial y terminal) y la extensión lineal de la dendrita más larga. Por otra parte también se realizaron registros durante 3 horas del periodo de reposo de las conductas de acicalamiento, exploración, locomoción y no locomoción tanto en animales normales así como en animales desnutridos a la edad de 30 días. Los resultados obtenidos mostraron disminuciones significativas en los animales desnutridos en el tamaño del eje mayor del soma, en la densidad dendrítica que intersectó el primer círculo y en la densidad de espinas del segmento terminal en los animales de 30 días. A la edad de 90 días, se encontró una disminución significativa en el número de espinas del segmento terminal y a los 220 días se presentaron disminuciones significativas en el eje mayor del soma, en el número de dendritas que intersectaron el tercer círculo y en la extensión lineal. Además los resultados obtenidos a nivel conductual revelaron una reducción significativa en las conductas de acicalamiento y exploración durante las 14:00 - 15:00 hrs del periodo de reposo (8:00 - 20:00 hrs) en los animales desnutridos de 30 días. Los resultados anteriores pueden ser interpretados en el sentido de que la desnutrición genera cambios importantes en las células granulares del GD produciendo en general una reducción de su sinaptogénesis representada por la disminución de la densidad de ramas y espinas dendríticas. Estas alteraciones pueden interferir con los procesos funcionales regulados por dichas células, como la discriminación espacial, la memoria, el aprendizaje y la conducta de adaptación hacia el ambiente.

INTRODUCCION

I. Hipocampo.

El hipocampo es propiamente el Asta de Ammon o cornu ammonis, fué una de las primeras estructuras cerebrales estudiadas por Camilo Golgi desde 1886 con el método que lleva su nombre, posteriormente Ramón y Cajal (1911) y Lorente de Nó (1934), hicieron descripciones detalladas de dicha estructura así como del giro dentado o Fascia Dentada. Recientemente se han descrito las células de éstas estructuras en los vertebrados superiores, desde la rata (Amaral, 1978) hasta el hombre (Braak, 1974). Anatómicamente, consta de una corteza trilaminada que se extiende a lo largo del piso del tercer ventrículo y está cubierto por el epéndima del mismo y por un plexo de fibras mielinizadas denominadas el alveus, formando la continuación de la fimbria, la cual es un conjunto de fibras que bordean al hipocampo medial (Fig. 1).

Es considerado como una estructura arcaica que en los roedores ocupa la mayor parte de las paredes ventrales lateral y posterior de la corteza cerebral y se puede reconocer fácilmente en el cerebro de los mamíferos. En el cerebro del humano, el hipocampo se extiende desde la región septal hasta la terminación rostral del lóbulo temporal, su porción dorsal es delgada y corre a lo largo del cuerpo calloso, posterior y ventralmente rodea y forma el piso del cuerno inferior del ventrículo lateral. El hipocampo se encuentra separado de la corteza adyacente por su fisura, que en la porción temporal, se separa del giro del hipocampo, y en la sección dorsal se continúa con el saco supracaloso. (Chronister y White, 1975).

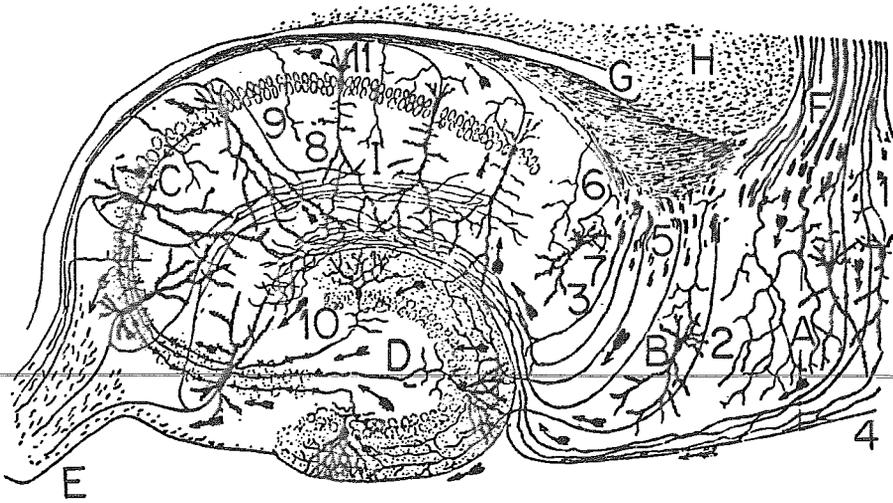


Fig. 1. Esquema de un corte sagital, en el que se muestran las estructuras y conexiones del hipocampo. A, ganglio de la porción occipital; B, subiculum; C, cornu ammonis; D, giro dentado; E, fimbria; F, cíngulo; G, fascia angular; H, cuerpo calloso; I, recurrentes colaterales de las células piramidales; 1, cilindroeje que penetra hacia el cíngulo; 2, fibras del cíngulo que terminan a través del núcleo de la región occipital; 3, fibras perforantes temporo-ammonis; 4, fibras perforantes del cíngulo; 5, fibras temporo-ammonis superiores; 6, fisura hipocampal; 7, células del subiculum; 8, células piramidales de la región superior del hipocampo; 9, colaterales ascendentes de las células piramidales; 10, cilindroeje de las células granulares; 11, fibras colaterales del alveus. (Modificado de Ramón y Cajal, 1911).

A. Estructura.

El hipocampo se encuentra formado por el giro dentado (GD) y los campos CA1, CA2, CA3, y CA4. Un reducto de la región del hipocampo se extiende en el lado dorsomedial abajo del cuerpo caloso y se denomina indusium griseum, el cual sigue por la región septal anterior y medialmente con la tenea tectal y se continúa hasta el núcleo olfatorio anterior. Las estructuras que lo rodean son: la corteza entorinal y el subiculum en sus porciones para y presubiculares (Figs. 3 y 5B).

B. Funciones.

~~En condiciones normales el hipocampo participa en el proceso de la~~ fijación del aprendizaje y de la localización espacial, ya que cuando se lesionan las conexiones principales del mismo se ocasionan defectos en estos procesos, los cuales no pueden ser compensados (Olton y cols., 1978). Algunas investigaciones electrofisiológicas del ritmo theta en el hipocampo, se relacionan con los estudios de las conductas, del tipo de la motivación y emoción así como con los movimientos voluntarios, además el ritmo theta representa un índice de la actividad cerebral y se le ha correlacionado con las funciones de orientación y atención. También se ha considerado que una condición indispensable para la fijación de la memoria, requiere de cierta actividad del hipocampo, de tal manera que algunas teorías relacionan la presencia del ritmo theta con el aprendizaje y la memoria, en las que posiblemente el hipocampo tenga una función de sincronizador (Vinogradova, 1975).

En resumen el hipocampo se identifica como una parte del cerebro visceral, como regulador de la motivación y las emociones, como parte

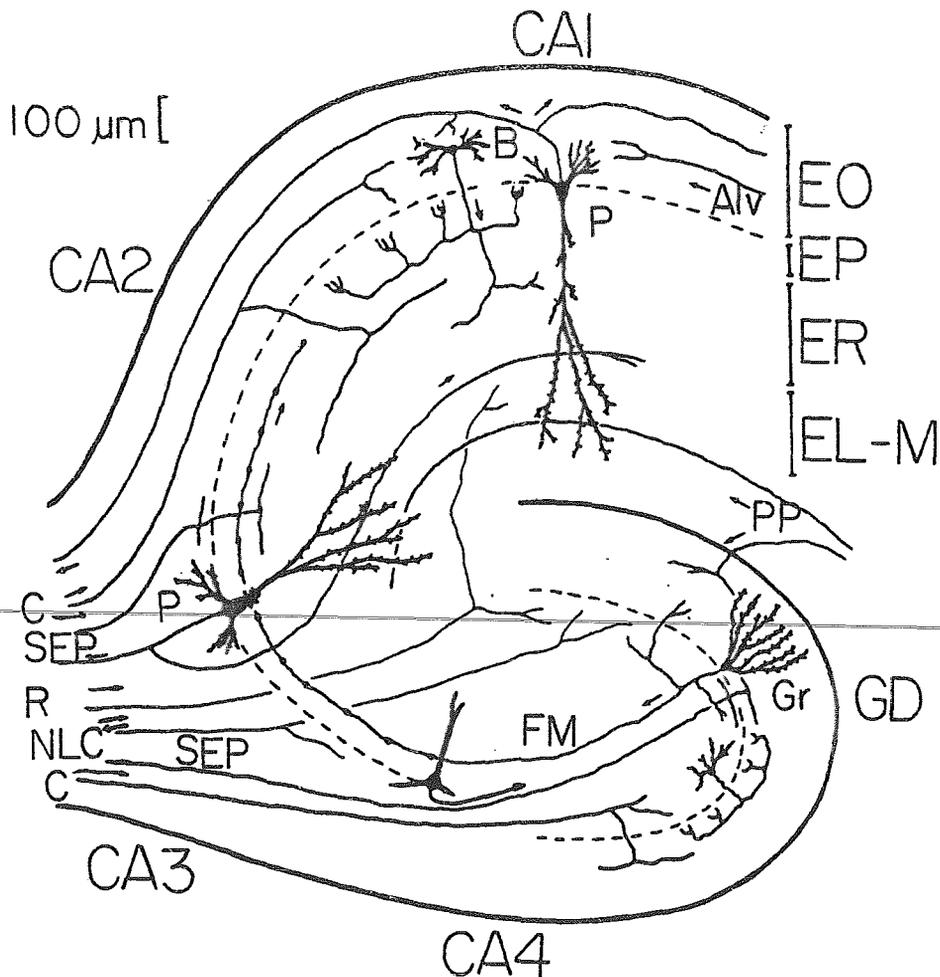


Fig. 2. Esquema de un corte frontal en el que se muestran los elementos neuronales del hipocampo: Células piramidales (P) de los campos (CA1-CA4) del propio hipocampo y las células granulares (Gr) del giro dentado (GD). Las aferencias provienen de vías monoaminérgicas de los núcleos del rafe (R) y locus coeruleus (NLC) que entran a las Gr del GD y a las dendritas apicales de las células piramidales del CA1, también se muestran las aferencias septales (SEP) y comisurales (C) que son recibidas por los segmentos dendríticos basales de las Gr. Por último podemos observar el patrón perforante (PP), cuyas vías viajan sobre la capa molecular del subiculum, continúan a través del CA1 en el asta de Ammon y finalmente invaden los dos tercios de la capa molecular dentada. Abreviaturas: B, células en cesta; FM, fibras musgosas; Alv, alveus; EO, estratum oriens; EP, estratum piramidale; ER, estratum radiatum; EL-M, estratum lacunosum moleculare.

del sistema de análisis sensorial y como el substrato de los movimientos voluntarios. Involucrado en la reacción de orientación y atención, así como la fuente de inhibición interna y como el área crítica para la memoria y el aprendizaje. Es obvio que estas funciones no son reguladas exclusivamente por el hipocampo, pero en general se acepta que este "registro de información" constituye la función de dicha estructura (Bayer, 1985).

II. GIRO DENTADO.

A. Localización.

~~El giro dentado o fascia dentada, es una banda delgada~~
estratificada la cual se encuentra rodeada del hipocampo, se continúa posteriormente, con el giro supracaloso y en su porción anterior, se proyecta a la superficie medial del mismo como la banda de Giacomini.

Rostral y caudalmente el GD sigue la forma curvada del hipocampo y presenta el aspecto de una "C" abierta, la que rostralmente alcanza la región septal (polo septal), y ventralmente se extiende a través de la amígdala, formando "el polo temporal". En secciones sagitales, el GD es semejante en todos sus niveles (Fig. 4). En cortes frontales, el GD tiene un aspecto de "V" rodeado de las células piramidales del campo CA3 (Fig. 3). A la ubicación de estas dos capas del GD se les conoce comúnmente como los filos intra y extrapiramidal, Amaral (1978), la reconoce como el área dentada (Fig. 4A). Finalmente, en los cortes horizontales su forma es de "U" y se encuentra rodeado del subiculum y de la fisura del hipocampo (Swanson y Cowan, 1977) (Fig. 5).

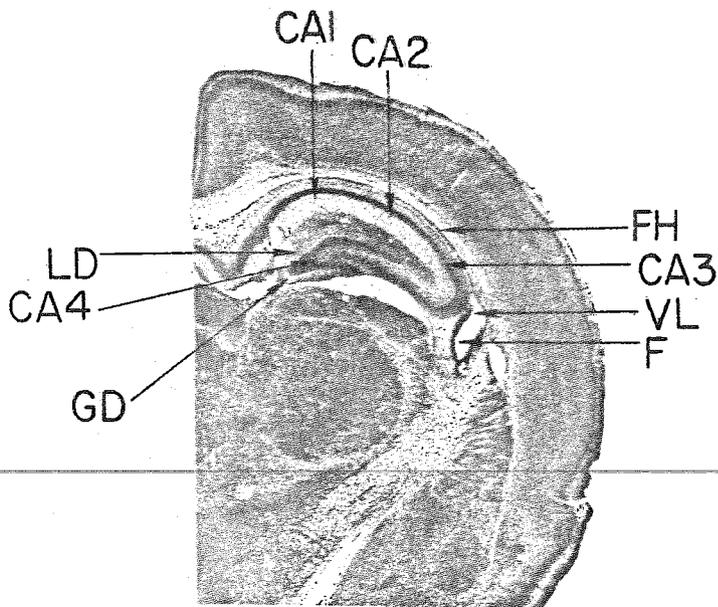


Fig. 3. Corte frontal del cerebro de la rata teñido con Nissl, en el que se observa el hipocampo y sus estructuras como son el giro dentado (GD), en el cual se muestra el labio dorsal (LD), donde se realizó el muestreo y los campos CA1, CA2, CA3, y CA4; la fimbria (F) y la fisura del hipocampo (FH) y el ventrículo lateral (VL). Aumento 10x.

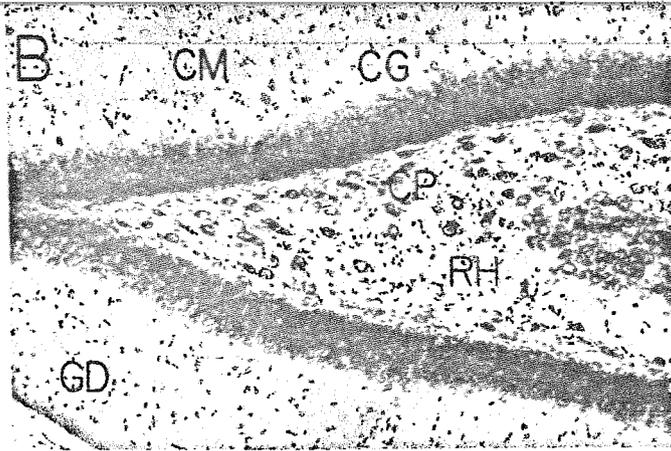


Fig. 4. Cortes sagitales del cerebro de la rata teñidos con Nissl. En A, se observa el hipocampo (H) y el giro dentado (GD) con sus dos regiones infra (IN) y extrapirámida (EX) denominadas por Cajal (1911), regio inferior y regio superior respectivamente (aumento 6x). En B, una fotomicrografía a 130x del giro dentado (GD) en donde se observan la capa molecular (CM), la capa granular (CG), la capa polimorfa (CP) y la región hiliar (RH).

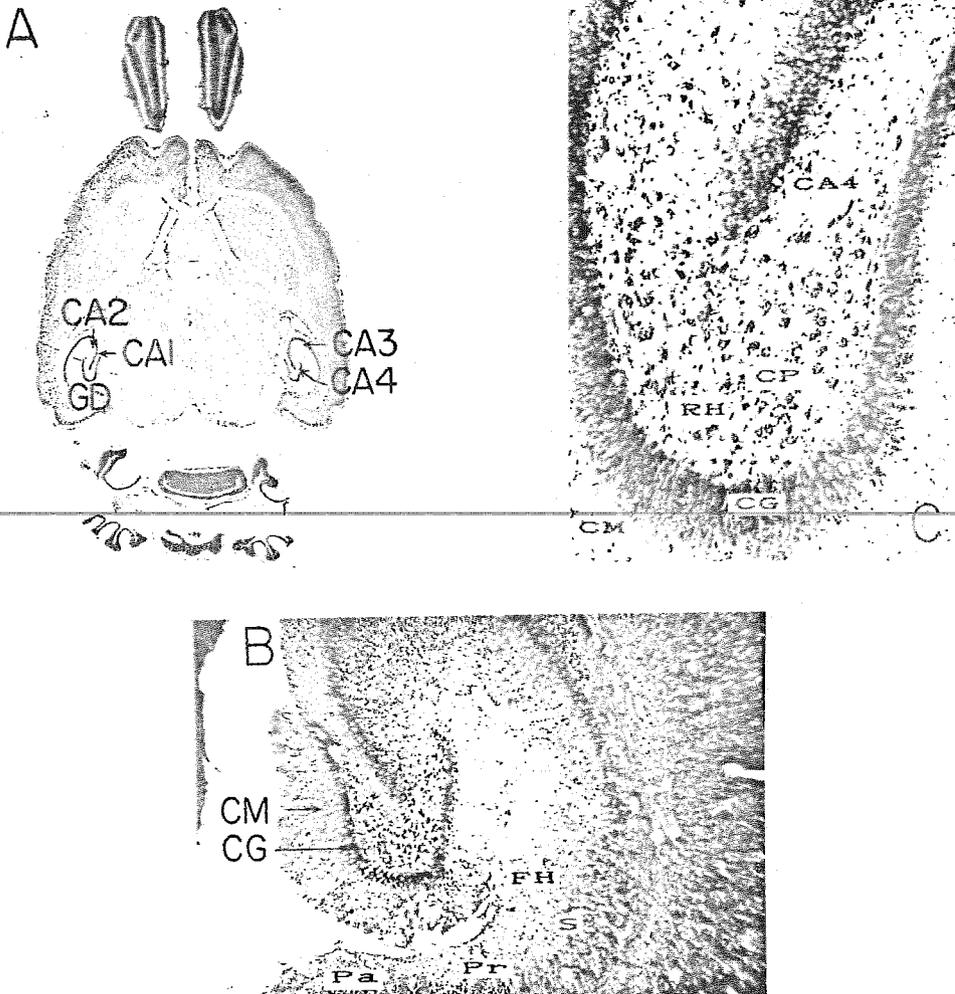


Fig. 5. En A, se muestra un corte horizontal del cerebro de la rata teñido con Nissl a 4x, donde se observa el hipocampo constituido por el giro dentado (GD) y sus diferentes campos (CA1-CA4). En B, fotomicrografía de un corte horizontal del giro dentado a 80x con la técnica argéntica, en donde se observa la forma en "U" de dicha estructura dada por la capa granular (CG), en comparación con la amplitud de la capa molecular (CM); se observan además el parasubiculum (Pa), el presubiculum (Pr), el subiculum (S) y la fisura hipocampal (FH). En C, fotomicrografías de un corte horizontal del giro dentado a 128x teñido con la técnica de Nissl. Abreviaturas: capa granular (CG), capa molecular (CM), capa polimorfa (CP), región hilar (RH) y cornu ammonis 4 ó CA4 del hipocampo.

B. Citoarquitectura.

El giro dentado es una porción trilaminada y doblada sobre el borde libre del hipocampo. La primera capa es la molecular o plexiforme y contiene las dendritas terminales de las células granulares (Gr), las cuales muestran un campo dendrítico cónico, cuyas ramas secundarias contienen pocas ramificaciones terciarias, y se distribuyen en la parte superficial de la capa molecular (Williams y Matthyse, 1983), Figs. 6 y 7. Los axones de las células granulares se denominan fibras musgosas (Cajal, 1911). La segunda capa es la granular, que contiene los cuerpos de las células granulares y la tercera capa denominada polimorfa, contiene una población celular heterogénea que se localiza cerca de la región hilar (Seress, 1978; Seress y Pokorny, 1981).

Estructuralmente las Gr, presentan una forma casi constante a lo largo del GD, cuyo perikarion es pequeño entre 8 a 12 μm de diámetro. Sin embargo, de acuerdo al tiempo de su origen las Gr se localizan a diferentes niveles en el estrato granuloso (Duffy y Rakic, 1983). El árbol dendrítico de las Gr posee dendritas ascendentes pero no basales y es posible identificar una dendrita apical, la cual puede llevar dendritas secundarias que se aproximan a la capa molecular. Las células localizadas superficialmente, presentan en general de dos a tres dendritas que nacen del perikarion. La extensión total de las dendritas varía en cada célula, y en la rata adulta es del orden de 700 a 2500 μm . Se ha establecido de manera general que las espinas localizadas en el segmento proximal al soma son cortas y gruesas, mientras que las localizadas en las dendritas secundarias y terciarias son largas (2 μm de longitud) y numerosas (Desmond y Levy, 1986b). Al

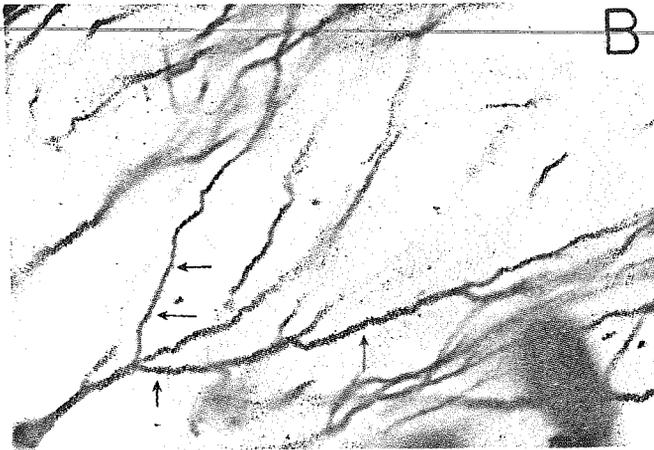
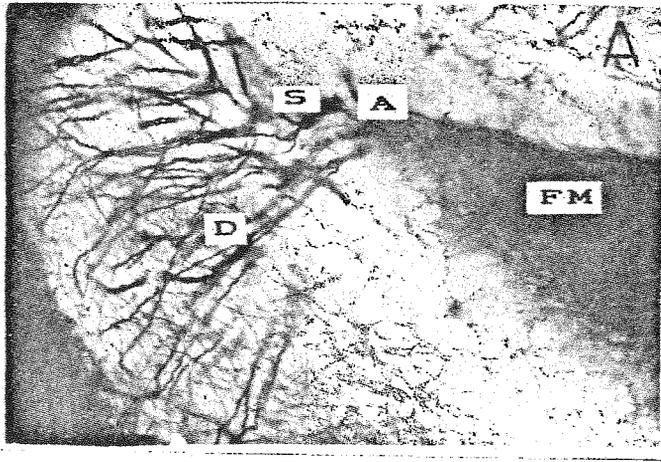


Fig. 6. Fotomicrografías del giro dentado en cortes frontales, y de las células granulares impregnadas con Golgi rápido. En A, se muestra un detalle del giro dentado, en donde se observa la orientación de las células granulares en su porción distal. S, soma; D, dendritas y A axones que forman las fibras musgosas (FM). En B, se muestra una célula granular a 320x, en la que podemos observar el campo dendrítico cónico característico de estas células granulares; las flechas indican las espinas dendríticas.

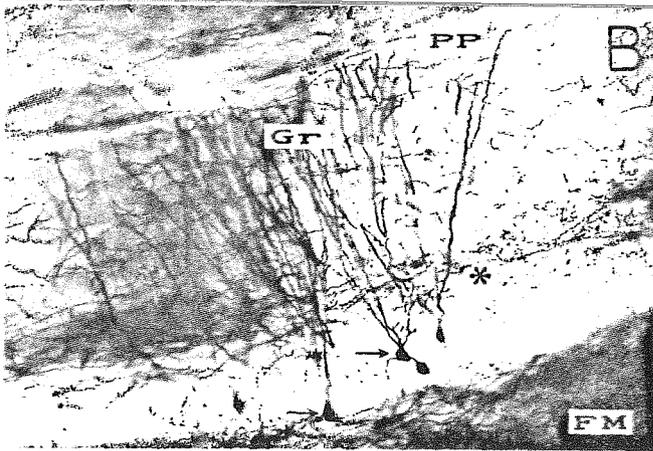
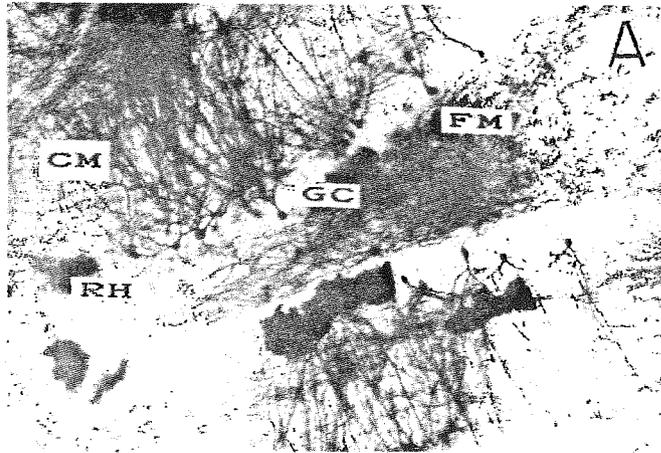


Fig. 7. Fotomicrografías en cortes frontales del giro dentado teñido con Golgi rápido. En A, se muestran los paquetes dendríticos de las células granulares formando la capa molecular (CM), sus somas redondos forman la capa granular (CG), y sus axones orientados hacia la región hiliar (RH), para formar el plexo denso de las fibras musgosas (FM), aumento 80x. En B, se muestra la porción extrapiramidal del giro dentado, en donde se observan las dendritas de las células granulares (Gr) y las fibras musgosas (FM). La flecha indica el origen del axón, y el asterisco las fibras comisurales de asociación originadas en las células de la capa polimorfa; PP, axones provenientes del patrón perforante originados de las células de la corteza perirrinal.

microscopio electrónico, se observa claramente que las espinas forman sinapsis con los axones provenientes del subiculum y del campo CA1 (Finch y cols., 1986).

Estimaciones cuantitativas del número de células granulares en la rata indican que hay en el GD entre 600 000 a 1 000 000 de células, y en el ratón de 270 000 a 450 000 (Vinogradova, 1975).

Por otro lado Ribak y Seress (1983), en estudios anatómicos con Golgi y al microscopio electrónico, han encontrado en la capa granular ~~neuronas en cesta cuyo tamaño celular es de 30 a 50 μ m de diámetro y~~ cuya forma se puede agrupar en 5 tipos distintos. Esto muestra que los mecanismos inhibitorios en el GD son mediados a través de las fibras musgosas, cuyas colaterales hacen sinapsis con las células en cesta de tipo gabaérgicas, siendo parecidas a las células estrelladas sin espinas de la corteza visual, a las cuales se les identifica como neuronas de circuito local. Así las células gabaérgicas del GD, pueden tener funciones de circuitos locales inhibitorios (Schlander y cols., 1987).

C. Características funcionales de las células granulares.

Las neuronas del GD presentan actividad espontánea y algunas pueden descargar en forma rápida, irregular y de larga duración y nunca responden a patrones diferentes, en comparación con las células de la corteza entorinal, que presentan descargas oscilatorias irregulares, haciéndolas menos selectivas.

El empaquetamiento denso de las neuronas en el GD, hace difícil los registros unitarios aun cuando se emplean microelectrodos, sin embargo, algunas veces es posible registrar la actividad neuronal múltiple. En otros casos, es posible ver que cuando las reacciones inhibitorias se localizan en todas las neuronas circunvecinas el registro viene a ser inhibido casi simultáneamente. En el caso de los efectos de encendido, se puede ver una descarga que también esta sincronizada con un grupo de neuronas, los resultados se registran como una suma de espigas de alta amplitud, cuya duración es de 6 a 8 mseg, pudiendo variar su amplitud de un estímulo a otro.

~~D. Vías aferentes y eferentes.~~

Las conexiones aferentes al GD se originan de diversas regiones pero principalmente de la corteza entorinal, del hipocampo, del hipotálamo, del septum y del sistema aminérgico (Amaral y Campbell, 1986). Las aferencias entorinales, se han estudiado con lesiones en la corteza entorinal. Utilizando la peroxidasa de rábano (HRP), se han podido seguir las fibras de las células estrelladas de la capa II de la corteza entorinal, que llegan al GD por el subiculum hasta las capas superficiales, por lo que se denominan el patrón perforante, estas cruzan la fisura del hipocampo de una manera oblicua y alcanzan los dos tercios superficiales de la capa molecular del GD, esparciéndose en dos partes, así las del área lateral entorinal, van a la capa molecular en el tercio superficial, mientras que las provenientes de la porción medial, terminan en el tercio medial. Esta distribución también se ha estudiado con el método de sulfato argéntico (Timm), a base de metales pesados (Gaarskjaer, 1978).

Las aferencias del hipocampo al GD, se originan en las células fusiformes de la región hiliar y se proyectan en ambos lados del GD y a una parte del campo CA4 (Amaral, 1978). La distribución ipsilateral llamada también de asociación y la denominada del cruce comisural, terminan sobre el mismo segmento basal de las dendritas del GD, estas terminales se sabe que son excitatorias (Fig. 2).

La aferencias del hipotálamo al GD se han identificado con transporte retrógrado de la HRP inyectada en el hipocampo, revelando que éstas aferencias provienen de las áreas hipotalámicas lateral, posterior, y lateral preóptica, pero principalmente de la región supramamilar. Los métodos más recientes de tinción anterógrada con aminoácidos marcados, revelan que las terminales en el GD desde el área supramamilar, forman una banda de 20 a 30 μm de amplitud en la rata y también en el gato, en la zona ocupada también por las aferentes del hipocampo (Amaral y Campbell, 1986). La microscopía electrónica ha revelado que las sinapsis son de la variedad simétrica con vesículas aplastadas o pleomórficas del tipo inhibitorias, de tal manera que las aferencias hipotalámicas pueden constituir un patrón inhibitorio formado por axones largos.

Las aferencias septales derivan hacia el GD, del complejo medial septal o de la banda diagonal (Chronister y White, 1975), muchas fibras terminan en la región fibrilar, aunque algunas de ellas, también terminan en la capa molecular. No se conocen bien las características neuroquímicas de sus terminales pero se supone que son colinérgicas, ya que por lesiones en las aferencias septales (Fig. 2) se reduce el contenido de acetilcolinesterasa en el GD.

Las entradas monoaminérgicas se originan de dos fuentes: aferencias noradrenérgicas laterales, provenientes del núcleo locus coeruleus (NLC) y serotoninérgicas de los núcleos rafe dorsal (RD) y rafe medial (RM) del mesencéfalo (Fig. 2), cuya distribución no es bien conocida todavía, sin embargo se supone que terminan en la región hiliar y otras más se ramifican difusamente en la capa molecular. Por otra parte, se sabe que la distribución de las fibras noradrenérgicas producen influencias inhibitorias de larga latencia en las células piramidales (Amaral y Campbell, 1986).

Con respecto a las eferencias del GD, existen dos blancos para ~~los axones de las células granulares, los campos ipsilaterales CA3 del~~ hipocampo y las células musgosas esparcidas en el hilio. Las fibras musgosas descienden al hilio y se ramifican, cuyas colaterales se quedan en el hilio, en tanto que las fibras largas van hacia al campo CA3. Todas las ramificaciones muestran varicosidades a lo largo de su trayectoria para hacer contacto con las espinas torneadas de las células piramidales del campo CA3, así como con las células musgosas (Zimmer y Gahwiler, 1984). Una vez que han atravesado el hilio, las fibras musgosas largas se distribuyen en dos paquetes en el CA3, el infrapiramidal corto sobre las dendritas basales y el paquete suprapiramidal, que es más largo y forma la capa lúcida en CA3. También los axones de las fibras musgosas envían colaterales a la capa molecular dentada y una fibra larga se extiende hasta la fimbria (Bayer, 1985). Se ha mostrado por estudios de microscopía electrónica, que las varicosidades de los axones de las células granulares, poseen una enorme cantidad de vesículas sinápticas de 20 a 60 nm de diámetro, las cuales se encuentran cuando los animales se han

sometido a condiciones de estimulación (Desmond y Levy, 1986a).

E. Desarrollo del giro dentado.

El precursor de la población celular del GD, se origina de la porción media de las vesículas cerebrales, de la región que contribuye a la formación del plexo coroides del ventrículo lateral y del neuroepitelio que da origen al hipocampo. Las neuronas que dejan el neuroepitelio y van a formar al hipocampo son posmitóticas, y pierden la capacidad de sintetizar DNA. Por otra parte, la mayoría de las células que dejan la zona dentada son neuroblastos que se continúan dividiendo aún después de alcanzar la región en desarrollo del giro dentado por periodos que pueden durar días o hasta semanas. El periodo de la producción neuronal es prolongado y continuo, desde la segunda mitad de la gestación hasta la tercera semana posnatal (Angevine, 1975; Altman y Bayer, 1975). Así, las células granulares se generan en un periodo de 5 semanas, de las cuales un 15% se forman prenatalmente, ocurriendo el pico de la neurogenesis al final de la primera semana posnatal, produciéndose un promedio de 50 000 células por día en la rata, y hacia el final de la segunda semana posnatal la proliferación es relativamente baja, sin embargo, algunas permanecen en división hasta el tercer mes posnatal en el estrato granuloso (Altman y Bayer, 1975), siendo éstas las que reemplazan a las células que mueren prematuramente.

Con respecto a la origen cronológico de las conexiones aferentes, en el GD se desarrollan primero antes del nacimiento, las fibras comisurales y las de asociación, en segundo lugar las conexiones entorinales, seguidas de las aferentes aminérgicas, septales, e

hipotalámicas, y en tercer lugar las colinérgicas que son generadas entre los 11 días y la tercera semana posnatal. El desarrollo de las sinapsis simétricas y asimétricas (excitatorias o inhibitorias), ocurre en la capa molecular del GD en el día 25 posnatal (Altman y Bayer, 1975).

F. Influencias ambientales sobre el desarrollo de las células granulares.

Juraska y cols. (1985), encontraron que la privación ambiental produce efectos en la ramificación dendrítica del GD y esta respuesta es diferente entre las hembras y los machos. Los segundos poseen mayores ramificaciones dendríticas que las primeras cuando se someten a condiciones de aislamiento, en tanto que en las hembras se invierten los efectos cuando las condiciones ambientales se enriquecen.

I I I . DESARROLLO NEURONAL Y

DESNUTRICION

El desarrollo de las diferentes poblaciones celulares que conforman al SNC, es heterocrónico, es decir, que estos elementos no se desarrollan ni se diferencian simultáneamente. Por esta razón, se debiera estudiar cada una de las poblaciones celulares a intervalos distintos, así como los cambios ocurridos en ellas por las diferentes influencias ambientales. Se sabe que el desarrollo de la mayoría de las células nerviosas o de proyección, se forman en el hombre y en los mamíferos altriciales como la rata, durante la etapa fetal, mientras que las neuronas pequeñas y las células gliales lo hacen durante el

primer año de vida (Altman y Das, 1965). Por otra parte, el proceso de mielinización en la rata ocurre entre los 10 y 21 días posnatales (Krigman y Hogan, 1976).

La desnutrición es uno de los principales factores que interfiere en estos procesos, particularmente en el desarrollo de la sinaptogénesis que se correlaciona por la densidad de las dendritas y de las espinas en las distintas poblaciones celulares durante el desarrollo posnatal. Así en la rata, la división neuronal cesa alrededor del destete. Esta situación le permite a la rata infante disminuir su dependencia con la madre e incrementar las posibilidades de sobrevivir en la naturaleza con un substrato neuronal adecuado. Como se mencionó anteriormente, el desarrollo de la corteza no es homogéneo, y el curso temporal de las fases de crecimiento varía en las distintas regiones cerebrales. Por ejemplo, la división celular continúa hasta los 21 días posparto, mientras que en el cerebelo dicho fenómeno ocurre más rápidamente y termina entre los 16 y los 17 días posparto (Fish y Winick, 1969).

El desarrollo de los neurotransmisores específicos varía en las diferentes áreas cerebrales, y en forma concomitante con los cambios morfológicos y electrofisiológicos, ocurren también cambios funcionales dentro del SNC (Sobotka y cols., 1974).

En los animales que han sido desnutridos pre y posnatalmente con dietas hipoproteínicas con un contenido de 8% de caseína los análisis de aminas biogénicas en el SNC, han mostrado un incremento consistente, desde los primeros días posnatales hasta el estado adulto

(Morgane y cols., 1978). Por diferentes modelos de desnutrición utilizados experimentalmente, en distintas especies altriciales, se ha establecido que la privación de nutrientes como una variable aislada produce en el cerebro, marcados cambios. Los resultados indican que las alteraciones son más severas y tienen menor grado de reversibilidad, cuando la desnutrición se establece durante el periodo previo al destete o durante el periodo breve inmediato al nacimiento (Leuba y Rabinowicz, 1979a y b). Sin embargo, estos efectos no son los mismos en las distintas estructuras del SNC, particularmente en el tallo cerebral en donde se generan las aminas biogénicas, como la serotonina (5-HT) y norepinefrina, en los núcleos RD y el NLC respectivamente. En estudios previos sobre estos núcleos se han clasificado y medido varios parámetros celulares como son los campos dendríticos, la densidad de las espinas, el tamaño del soma, así como la orientación y origen de los axones en tres edades diferentes (30, 90 y 220 días de edad). De ese estudio se identificaron tres tipos celulares (células multipolares, fusiformes y ovoides) con patrones de desarrollo dendrítico diferentes (Díaz-Cintra y cols., 1981a y b; Cintra y cols., 1982). Empleando una desnutrición crónica pre y posnatal con una dieta de 8% de caseína, se encontraron patrones de desarrollo diferentes en cuanto a la densidad de las espinas dendríticas entre las edades estudiadas. Así por ejemplo, en el núcleo RD los tres tipos celulares mostraron incremento de estas espinas entre los 30 y 90 días de edad y luego un decremento entre los 90 y 220 días, en tanto que las células del NLC mostraron un efecto contrario, es decir, un decremento y luego un incremento en las edades estudiadas, (Morgane y cols., 1982), estos resultados se pueden interpretar en el sentido de que las células de cada núcleo muestran

una sincronía en relación a la edad, que fueron diametralmente opuestas en cada núcleo, apoyando la idea de que ambos son recíprocamente inhibitorios.

En resumen, la desnutrición que se instala durante el desarrollo cerebral, tiene efectos más marcados sobre el grosor de la corteza cerebral, la densidad neuronal, el desarrollo sináptico y la amplitud dendrítica y se presenta tanto en las células corticales como en las de los núcleos del tallo cerebral.

Se ha encontrado que la desnutrición produce una deficiencia tanto en el contenido de ácido ribonucleico (ARN), como en el contenido de ácido desoxiribonucleico (ADN) en el hipocampo (Fish y Winick, 1969). Además interfiere con el desarrollo de las células astrogliales de dicha estructura (Cordero y cols., 1976) y conduce a una reducción permanente del número de células de los campos CA1, CA3, CA4 y del GD (Jordan y cols., 1981). Por otra parte a uno de estos campos, el CA1 y al GD se les ha involucrado en la generación del ritmo theta electroencefalográfico. Se ha registrado la actividad eléctrica multiunitaria de estos campos en animales desnutridos en sus distintos estados de vigilancia, en la vigilancia activa, y en el sueño de movimientos oculares rápidos (MOR) a los 30 y 45 días de edad (Bronzino y cols., 1986), asimismo se han obtenido los registros de la actividad de los distintos campos del hipocampo y del GD. Estos estudios han permitido la interpretación de que la actividad eléctrica se asocia con la actividad de las poblaciones neuronales específicas en los diferentes sectores del hipocampo, tanto en animales normales como en desnutridos (Austin y cols., 1986). Asimismo se sabe que la

estimulación eléctrica en ciertas partes del SNC, como el septum medial, producen el ritmo theta del hipocampo, mientras que las lesiones en dicha estructura lo abaten. Por estas características al septum se le ha identificado como un inhibidor de la actividad del ritmo theta en el hipocampo (Jeantet y Jaffard, 1983).

A. Efectos conductuales de la desnutrición.

Estudios recientes sobre el papel de la desnutrición en el desarrollo de la rata, han sugerido que el hipocampo es especialmente afectado no sólo a nivel morfológico, sino también neurofisiológico y por lo tanto conductual. Jordan y cols. (1982) encontraron que la desnutrición pre y posnatal, afecta al hipocampo reduciendo el número de células así como la distribución de las mismas. En relación a las conductas de alternancia espontánea medidas en un laberinto en forma de "T", estas desaparecen o cambian de nivel en los animales desnutridos. Además la potenciación del hipocampo a largo plazo producida en el GD por estimulación del canal perforante, también se altera significativamente en ratas adultas, desnutridas durante la lactancia (Jordan y Clark, 1983).

Con base a estos estudios, se han intentado identificar las alteraciones funcionales permanentes en diversas conductas, que quizá reflejen los cambios en la estructura y por lo tanto en la función del hipocampo. A pesar de que ha sido difícil correlacionar dichos cambios con la estructura y función del SNC, actualmente sabemos que la desnutrición neonatal tiene efectos serios e irreversibles en la maduración bioquímica y morfológica del cuerpo y del cerebro de la rata, lo cual interfiere con su desarrollo conductual. Se sugiere

además que la desnutrición produce a largo plazo una reducción en la conducta exploratoria, en la habilidad para aprender y en la conducta maternal, así como también, incrementos en las conductas de acicalamiento y locomoción (Levitsky y Barnes, 1972; Smart, 1974; Salas y Torrerc, 1979).

Muchos de los trabajos en esta área se han realizado en animales neonatos para estudiar el efecto de la desnutrición durante ese periodo combinada con diversas manipulaciones ambientales, a partir de estos estudios se ha observado, que cuando la desnutrición temprana se suma al aislamiento ambiental, se presenta una marcada reducción en la conducta exploratoria. Levitsky y Barnes (1972), sugirieron además, que este tipo de desnutrición produce un incremento de la actividad locomotora en las ratas que fueron sometidas a la prueba de campo abierto; esta respuesta puede ser correlacionada con otras medidas emocionales.

El mecanismo por el cual la desnutrición posnatal y la estimulación ambiental interactúan, para producir cambios conductuales a largo plazo todavía no es claro, sin embargo se sabe que la desnutrición altera la capacidad de percepción del ambiente por el animal durante el periodo crítico de desarrollo lo que se traducirá fisiológicamente en una menor capacidad para recibir y/o integrar información acerca de su medio ambiente. Quizá algunos cambios profundos tengan lugar dentro del SNC, como también en el resto del cuerpo durante el periodo de la desnutrición neonatal (Altman y cols., 1970).

Finalmente, Hall (1984) mostró que los animales desnutridos presentan cambios característicos, tanto en la conducta emocional como en la conducta maternal, observándose una marcada deficiencia en la capacidad de estos animales para construir sus nidos, además pasan menos tiempo alimentando a sus crías y muestran una mayor latencia para regresarlas al nido. Por último Hall menciona que los animales desnutridos sometidos a pruebas de laberinto, necesitan de un proceso de adaptación más largo para aprender acerca de las condiciones de la prueba, concluyendo que las ratas desnutridas poseen menores mecanismos eficientes en la conducta de atención selectiva.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Con base a los estudios anteriores, el problema que se pretendió resolver en la presente tesis fué el conocer los efectos de la desnutrición pre y posnatal en el patrón anatómico de las células granulares del GD de la rata, y en las conductas de acicalamiento, exploración, locomoción y no locomoción para tratar de explicar las siguientes interrogantes:

- 1) ¿La desnutrición pre y posnatal produce alteraciones anatómicas en las células granulares del GD?
- 2) ¿Tiene efectos la edad en las alteraciones anatómicas de las células granulares del GD, en animales normales y desnutridos?.
- 3) ¿Dichas alteraciones tienen repercusiones en algunos aspectos fisiológicos y conductuales? ¿Cuáles son estas?.
- 4) ¿Este modelo de desnutrición, ocasiona cambios sobre las conductas de acicalamiento, exploración y locomoción en la rata?

OBJETIVOS .

- 1) Establecer un patrón anatómico normal, mediante la realización de un estudio morfométrico, en la población de las células granulares del GD del hipocampo de animales normales (que fueron sometidos a una dieta de 25% de caseína), para compararlo con el patrón anatómico de los desnutridos (sometidos a una dieta de 8% de caseína).

- 2) Estudiar estos cambios anatómicos, a largo plazo, tanto en los animales normales como desnutridos para lo cual se seleccionaron tres edades: 30, 90 y 220 días.

- 3) Interpretar mediante un análisis estadístico, si las alteraciones morfométricas son ocasionadas por la desnutrición pre y posnatal en las células granulares del GD, tanto como por el factor edad.

- 4) Estudiar las conductas de acicalamiento, exploración, locomoción, en ratas normales y desnutridas de 30 días de edad,

- 5) Interpretar mediante un análisis estadístico, las alteraciones conductuales en la rata desnutrida pre y posnatalmente.

HIPOTESIS.

Si la desnutrición produce alteraciones funcionales en la discriminación espacial, la memoria y el aprendizaje de un organismo, funciones reguladas en parte por el hipocampo, entonces éstas alteraciones se deberán parcialmente a los cambios estructurales que ocurren en las células granulares del giro dentado del hipocampo.

Si la desnutrición instalada durante el desarrollo prenatal y posnatal de un organismo produce efectos en su coordinación motora, ésta podrá evaluarse por el estudio de las conductas de acicalamiento, exploración y locomoción.

MATERIAL Y METODOS

Para el estudio, se seleccionaron 16 ratas hembras nulíparas de la cepa Sprague-Dawley de 60 a 70 días de edad, a las que se les dividió en dos grupos, uno en el cual las ratas recibieron una dieta normal (25% de caseína), y un segundo grupo de hembras que recibió una dieta baja en proteínas (8% de caseína) durante 5 semanas antes del apareamiento (4 hembras con un macho); 3 semanas de la gestación a fin de instalar la desnutrición prenatal y 3 semanas durante la lactancia (para provocar desnutrición en las crías). Por este procedimiento al reducirse el contenido de proteínas de la dieta, se reduce la cantidad de leche de la madre, lo cual genera desnutrición en las crías (Kanarek y Shoenfeld, 1986), (Tabla I). Posterior a esto las hembras preñadas se separaron en cajas diferentes, al nacimiento se procedió a estandarizar el número de animales por cada camada, a fin de hacer la población heterogénea, se juntaron las crías que nacieron el mismo día formándose grupos de 8 individuos que fueron distribuidos al azar entre madres que llevaron la misma dieta y que parieron el mismo día. Posteriormente las madres alimentaron a sus crías durante el periodo de la lactancia y cumplidos los 21 días de edad, las crías tanto de madres normales como de desnutridas fueron separadas de éstas y sexadas, colocando a los animales del mismo sexo en número de 4 por caja, proporcionándoles la misma dieta que a sus madres (8% ó 25% de caseína). Una vez instalada la desnutrición pre y posnatal en estos animales, y una dieta normal a los controles nutridos con 25% de caseína, (la cual fué indispensable para establecer un patrón normal comparativo), se obtuvieron para el estudio morfométrico (método A), un grupo constituido por 13 animales de 30 días; 13 de 90 y 13 de 220

TABLA I: COMPOSICION DE NUTRIENTES EN DOS TIPOS DE DIETAS

Componente	Dieta* 25% de caseína	Dieta* 8% de caseína
Proteínas	21.8	7.0
Grasas	15.4	15.1
Carbohidratos	50.9	67.9
Sales	4.7	4.7
Vitaminas	1.0	1.0
Agua	2.2	0.9
Componentes no nutritivos	4.2	4.2
K cal/g	4.3	4.3

*Estas dietas se complementan con l-metionina (0.4%) por la carencia de aminoácidos sulfurados en la dieta.

días de edad tanto para el grupo control como para el experimental. Para el estudio conductual (método B), sólo se seleccionaron 4 animales control y 4 animales desnutridos de 30 días de edad únicamente, debido a que los otros animales se emplearon para un estudio paralelo al presente. En ambos estudios solo se utilizaron animales macho.

A. Obtención de datos.

Método A: Una vez cumplida la edad señalada, los animales fueron perfundidos vía intracardiaca con formalina ajustada a un pH de 7.4, con el fin de obtener los cerebros para ser procesados con la técnica de Golgi rápido (modificación Díaz-Cintra y Cols., 1981a), la cual define con exactitud las características individuales neuronales. El muestreo se realizó en el labio dorsal del GD del hipocampo y en cada neurona se tomaron las siguientes mediciones: Eje mayor y menor del soma (μm); número de dendritas originadas del soma, la densidad del campo dendrítico, medido a través del número de dendritas que intersecaron cada uno de los 5 círculos concéntricos de acuerdo al método de Sholl (1956), (Fig. 8); número de espinas en los segmentos iniciales, mediales y terminales en una extensión de 50 μm cada uno, y la extensión lineal (μm) de la dendrita más larga y mejor impregnada (método por triangulación de Bok, 1959) (Fig. 8).

Método B: Se estableció un criterio de cuantificación, para la observación de las siguientes conductas: acicalamiento, cuando la rata se asea con la lengua o se rasca y asea con las extremidades. Exploración, cuando la rata camina husmeando, o bien se detiene en un lugar (ya sea apoyándose en las cuatro extremidades o en dos), pero

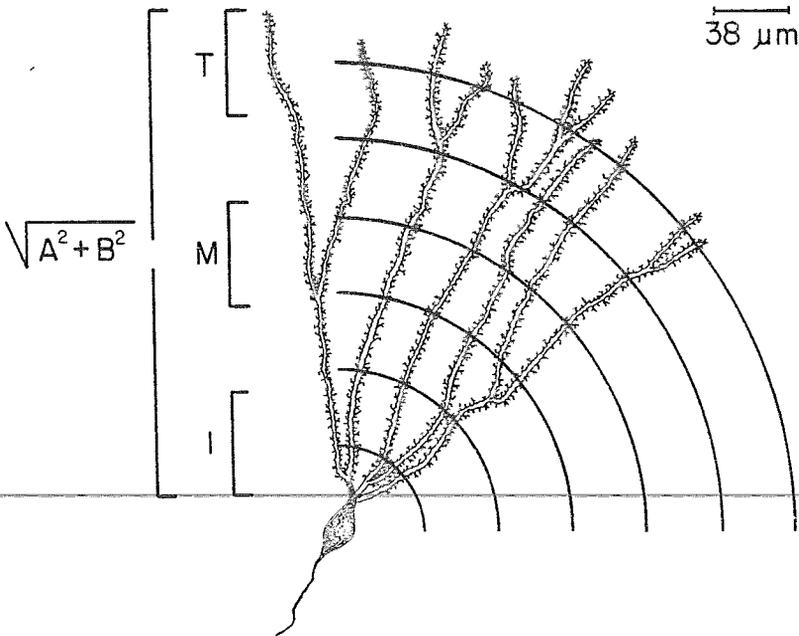


Fig. 8. Se ilustra el método de círculos concéntricos de Sholl, utilizado para medir el campo dendrítico por el número de intersecciones de las dendritas en cada uno de los 5 círculos. también se contó el número de espinas en tres segmentos: inicial (I), medial (M) y terminal (T) de 38 μm cada uno. Se utilizó el método de Bok para medir la extensión lineal por medio de la fórmula indicada en la figura, donde A es igual al número de micras en la retícula y B, al número de micras del tornillo micrométrico.

sin dejar de husmear. Locomoción, cuando la rata hace su nido, cuando se dirige de un lugar a otro pero sin husmear, cuando trata de tocar el cable de registro conectado a su implante, o cuando al estar dormida cambia de posición. No locomoción, cuando la rata esta completamente quieta. Los animales de 30 días de edad fueron colocados individualmente en 4 cámaras de registro (55 X 55 X 1.20 cm) las cuales se encontraban en un cuarto sonoamortiguado a una temperatura de 21 C (\pm 1 C). Se les mantuvo durante 24 horas con un ciclo de luz y obscuridad LO 12:12 (luz 8:00-20:00 hrs) y se les proporcionó agua y alimento ad libitum. Se efectuó el registro de las conductas ya mencionadas, por una ventana colocada en la parte superior de cada cámara durante la fase de reposo del ciclo (8:00-20:00 hrs); registrándose manualmente el tiempo en minutos que el animal estaba en cada conducta durante tres horas diferentes: 8:00-9:00, 14:00-15:00 y 19-20:00; el experimentador, permaneció observando constantemente a la rata, durante toda la hora.

B. Tratamiento de datos

Para el método A, las mediciones se realizaron a través del microscopio de observación de campo claro marca Zeiss, en cuyos oculares se instalaron reglillas previamente calibradas y mediante el uso de una cámara lúcida, se obtuvieron los dibujos tanto del GD como de las células granulares típicas en animales control y desnutridos (Fig. 9). También se utilizó el equipo de fotomicrografía. El análisis estadístico con las pruebas de "t" Student y U Mann Whitney (valor de Z) se realizaron en ambos métodos experimentales, en una computadora Printaform modelo 5203.

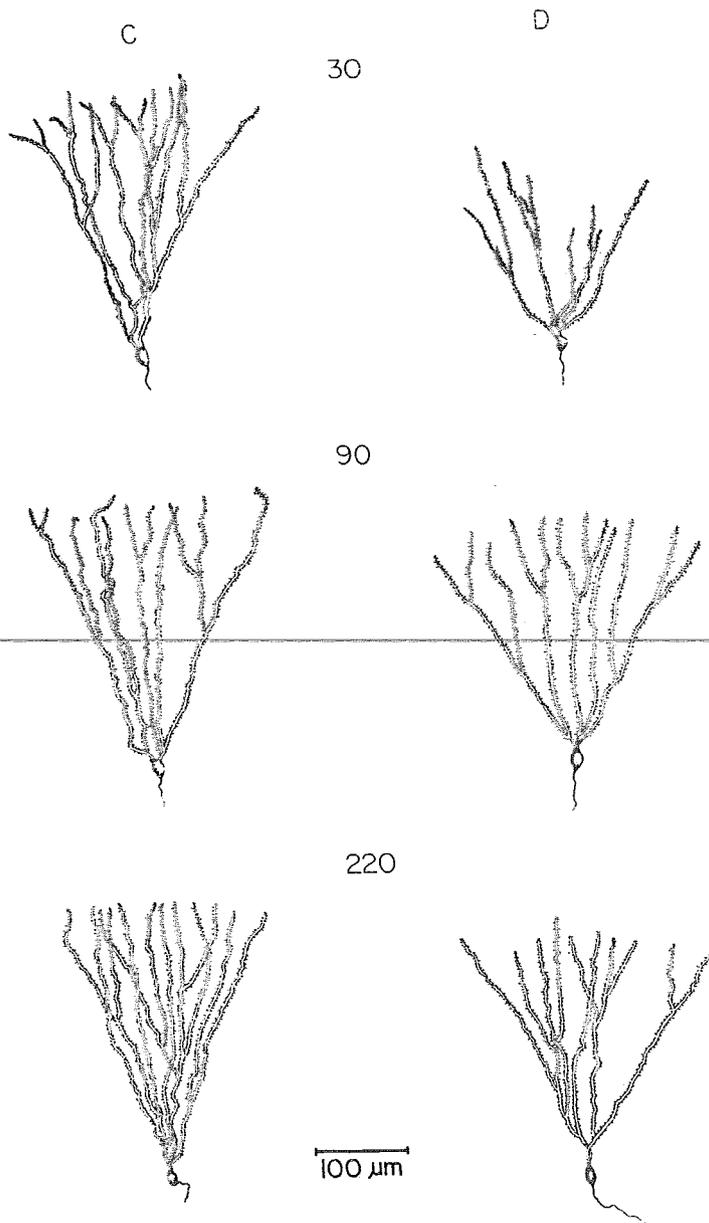


Fig. 9. Dibujos obtenidos con cámara lúcida de las células granulares (teñidas con Golgi rápido) del giro dentado, de los animales control (C) y desnutridos (D) a la edad de 30, 90 y 220 días. Obsérvese, que las células de los animal desnutridos, presentan una reducción de los elementos que las constituyen (tamaño del soma, densidad dendrítica, densidad de espinas dendríticas y extensión lineal). Los efectos de la desnutrición pre y posnatal son más notorios en los animales de 30 días de edad.

RESULTADOS

A. Cambios en el tamaño del soma.

Las mediciones realizadas en el tamaño del eje mayor de las células granulares del GD de animales normales y desnutridos, mostraron un valor promedio de 20 μm (rango: 14 - 30 μm) en los animales normales, y un promedio de 18 μm (rango: 14 - 30 μm) en los animales desnutridos a los 30 días de edad, con un decremento del 10% el cual resultó significativo ($P < 0.05$). En los animales de 90 días se obtuvo una media de 22 μm (rango: 16 - 30 μm) en el grupo control, y de 20 μm (rango: 16 - 30 μm) en el grupo experimental. Finalmente los promedios obtenidos en esta medición para los animales de 220 días de edad, fueron de 18 μm (rango: 12 - 24 μm) en el grupo control y de 17 μm (rango: 12 - 24 μm) en el grupo experimental, con un decremento del 7%, el cual resultó significativo ($p < 0.05$). Lo anterior indica que a excepción de los animales desnutridos a los 90 días, el tamaño del eje mayor de las células del GD, presentó alteraciones significativas en los animales desnutridos (Fig. 10)

En cuanto a las medidas realizadas en el eje menor del soma, se encontró en los animales de 30 días, una media de 12 μm (rango: 9-14 μm) en el grupo control, y de 13 μm (rango: 10 -18 μm) en el grupo experimental. En los animales de 90 días, la media obtenida fué de 13 μm (rango: 10 - 18 μm) en el grupo control y también de 13 μm (rango: 10 - 20 μm) en el experimental. Por último en los animales de 220 días, la media obtenida fué de 13 μm (rango: 10 - 18 μm) y de 12 μm (rango: 10 - 16 μm) en el grupo control y experimental respectivamente. Estas comparaciones, no revelaron ningún efecto significativo

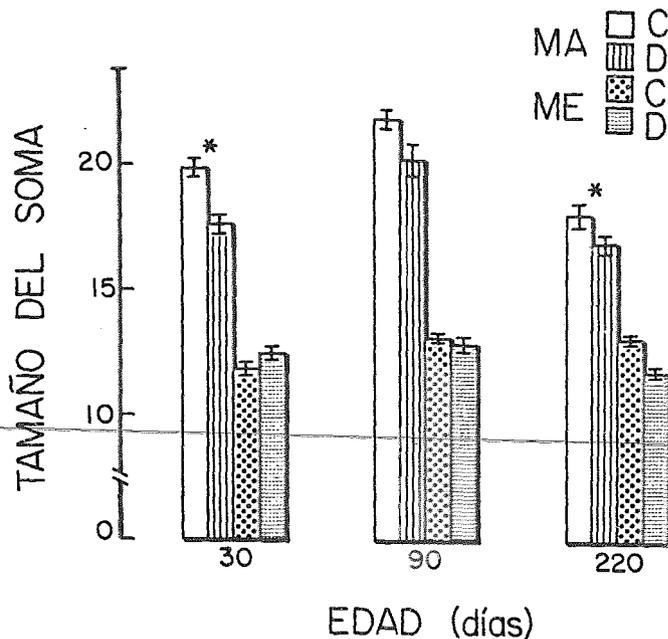


Fig. 10. Tamaño en micrones (μm) del eje mayor (MA) y menor (ME) del soma de animales control (C) y desnutridos (D) a los 30, 90 y 220 días de edad. Nótese, el decremento en el tamaño del eje mayor del soma del grupo experimental, siendo significativo tanto en los animales desnutridos a los 30 como a los 220 días de edad. * $P < 0.05$. Prueba "t" de Student.

provocado por los regimenes nutricionales empleados (Fig. 10).

B. Cambios en la extensión lineal.

Las medias obtenidas de la extensión lineal de la dendrita de mayor longitud, fueron de 266 μm (rango: 197- 354 μm) en el grupo control, y de 262 μm (157 - 433 μm) en el experimental de 30 días de edad. En los animales de 90 días de edad, los promedios fueron de 279 μm (rango: 69 - 366 μm) y 275 μm (rango: 212 - 462 μm) en el grupo control y experimental respectivamente. Finalmente a los 220 días de edad, los promedios obtenidos fueron de 311 μm (rango: 236 - 447 μm) en los animales normales y de 270 μm (rango: 222 - 432 μm) en los desnutridos. Por lo tanto la extensión lineal en los animales desnutridos presentó sólo a los 220 días un decremento significativo del 13% ($p < 0.05$), Fig. 11.

C. Cambios en la densidad dendrítica.

Los datos obtenidos de la densidad de las dendritas que se originan del soma, así como las que se midieron por la intersección de cada una de ellas en los cinco círculos concéntricos empleados, mostraron en los animales desnutridos a los 30 días, un decremento significativo del 26% ($p < 0.05$) en el número de dendritas que interseccionaron el primer círculo. A la edad de 90 días, no se observó ningún cambio significativo. Finalmente a los 220 días de edad, se observó en los animales desnutridos un incremento significativo del 15% ($p < 0.05$), en el número de dendritas que interseccionaron el tercer círculo. El número total de dendritas contadas por la intersección de éstas en todos los círculos, mostró un decremento significativo del 8% ($p < 0.05$) sólo a los 30 días de edad (Fig. 12).

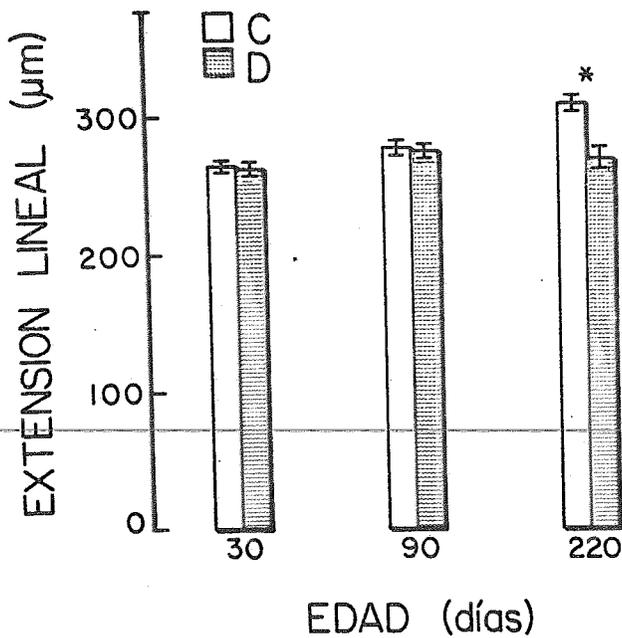


Fig. 11. Extensión lineal de la dendrita más larga en animales control (C) y desnutridos (D) a los 30, 90 y 220 días de edad. Nótese, el decremento significativo que mostraron en esta medida los animales desnutridos a los 220 días de edad. * $P < 0.05$. Prueba "t" de Student.

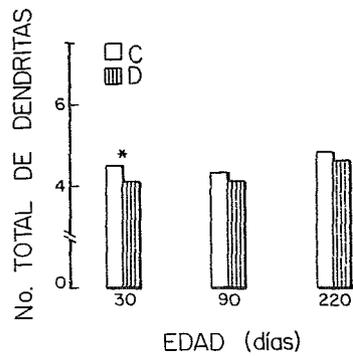
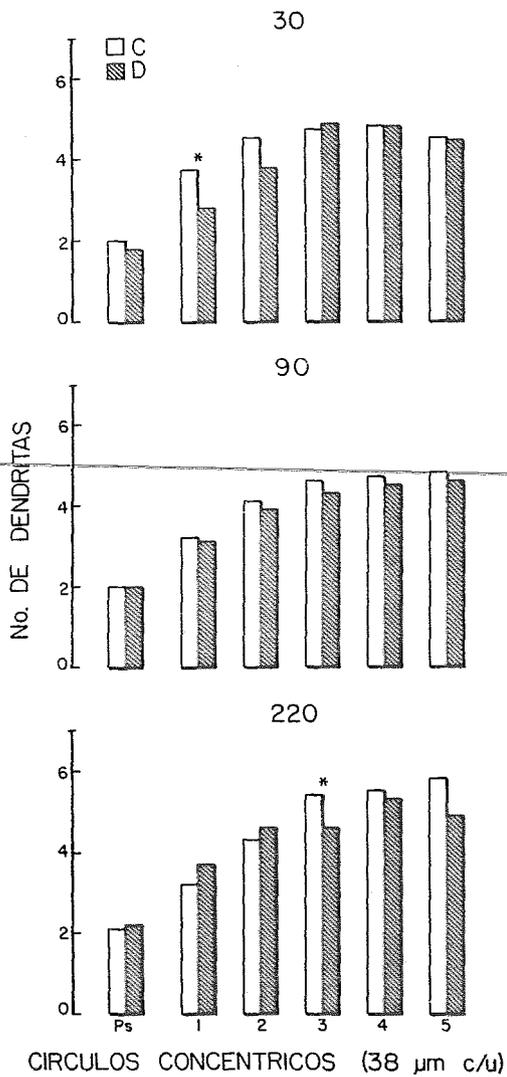


Fig. 12. Número de ramas dendríticas que se originan del soma (S), que intersectan cada uno de los 5 círculos medidos, y número total de dendritas en animales control (C) y desnutrido (D), en las tres edades estudiadas. Nótese el decremento significativo que presentaron los animales desnutridos a los 30 días de edad, tanto en el número total de dendritas, como en el número de dendritas que intersectaron el primer círculo. También podemos observar en los animales desnutridos a los 220 días, una disminución significativa en el número de ramas que intersectaron el tercer círculo. *P < 0.05. Prueba de "U" (valor de Z)

D. Cambios cualitativos del árbol dendrítico de las células granulares del GD.

Las observaciones cualitativas del árbol dendrítico de las células granulares del GD en las tres edades estudiadas mostraron claramente un diferente patrón de distribución espacial, es decir, que los animales normales presentaron una dispersión dendrítica cónica en las tres edades, como se muestra en la figura 9; los desnutridos en cambio mostraron un mayor ángulo de dispersión dendrítica lo que les dió a las células un aspecto de abanicos el cual fué más marcado por la disminución en las ramas dendríticas y en la extensión lineal.

~~E. Cambios en la densidad de espinas dendríticas.~~

Finalmente, el número de espinas fué medido en 3 segmentos: inicial, medial y terminal de 50 micrones cada uno (Fig. 8), observándose en los animales desnutridos de 30 días de edad, un decremento significativo del 17% ($p < 0.01$), en el número de espinas del segmento terminal. En los animales desnutridos a los 90 días, también se observó un decremento del 6% ($p < 0.05$), en este mismo segmento. La densidad total de espinas contadas en los tres segmentos, revelaron un decremento significativo del 9% ($p < 0.05$), sólo a la edad de 30 días (Fig. 13).

F. Cambios producidos por la edad.

En los animales normales, el eje mayor del soma presentó un incremento significativo del 10% ($p < 0.05$) entre los 30 y 90 días de edad. Entre 90 y 220 días de edad, esta misma medida presentó un decremento significativo del 16% ($p < 0.01$). En cambio, en los animales desnutridos, se observó entre los 30 y 90 días, un aumento

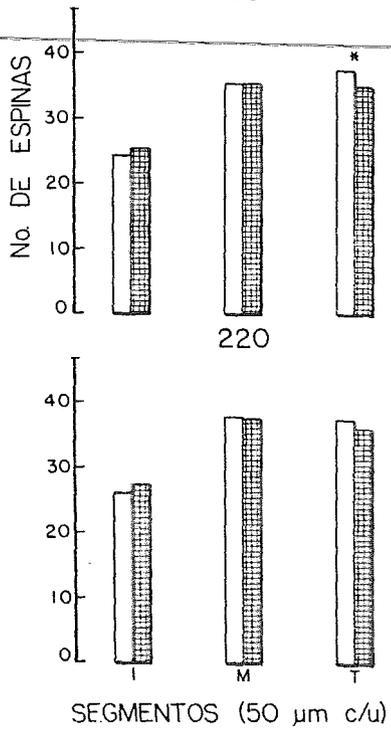
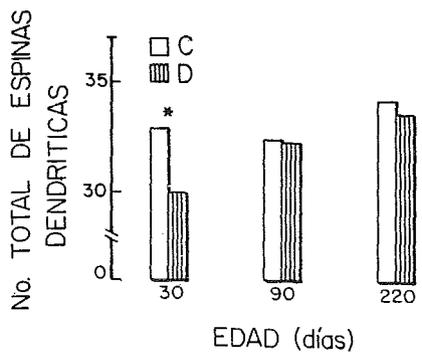
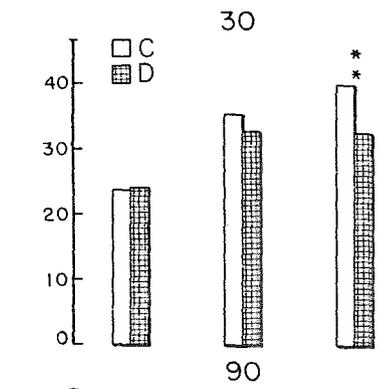


Fig. 13. Número de espinas en segmentos (I, iniciales; M, mediales y T, terminales) de 50 μ m cada uno, y número total de espinas contadas en la dendrita más larga de animales control (C) y desnutridos (D) a los 30, 90 y 220 días de edad. Nótese, el decremento en el número de espinas terminales que presentan los animales desnutridos de 30 y 90 días de edad. En los animales desnutridos a los 30 días también podemos observar una disminución en el número total de espinas. *P < 0.05, **P < 0.01. Prueba de "U" (valor de Z).

TABLA II

CAMBIOS DEBIDOS A LA EDAD EN LAS MEDICIONES MORFOMETRICAS EN LAS CELULAS GRANULARES DEL GD EN RATAS NORMALES Y DESNUTRIDAS.

EDAD	PERICARION		DENDRITAS						No. de espinas					
	MA (μm)	ME (μm)	CIRCULOS		CONCENTRICOS			TOTAL	EXTENSION LINEAL (μm)	Segmentos de 50 μm			Total (150 μm)	
			Intersecciones dendríticas	Ps	1	2	3			4	5	I		M
CONTROL														
30 Días	19.8 0.8	11.8 0.2	2.0	3.7	4.5	4.7	4.9	4.5	4.5	266.4 8.6	23.9	36.6	39.3	32.9
90 Días	21.8 0.8	13.0 0.4	2.0	3.2	4.1	4.6	4.7	4.9	4.3	278.8 10.8	24.2	35.7	37.4	32.4
% de cambio	10.1*	10.1*	0.0	-13.5	-8.8	-2.1	-4.0	8.8	-4.4	4.6	1.2	-2.4	-4.8	-1.5
220 Días	18.2 1.3	12.7 0.4	2.0	3.2	4.3	5.4	5.5	5.8	4.8	310.5 10.4	26.6	38.3	37.9	34.2
% de cambio	-16.5**	-2.3	0.0	0.0	4.8	17.3*	17.0*	18.3*	11.6***	11.3*	9.9	7.2	1.3	5.5
DESNUTRIDOS														
30 Días	17.7 0.7	12.6 0.4	1.8	2.8	3.8	4.8	4.9	4.4	4.1	261.8 11.4	24.1	33.3	32.5	30.0
90 Días	20.3 1.1	12.9 0.5	2.0	3.1	3.9	4.3	4.5	4.6	4.1	274.8 10.7	26.0	35.7	35.2	32.3
% de cambio	14.6*	2.3	11.1	10.7	2.6	-10.4	-8.1	4.5	0.0	4.9	7.8	7.2	8.3	7.6
220 Días	16.9 0.7	11.8 0.3	2.2	3.7	4.6	4.6	5.3	4.9	4.6	270.3 14.4	27.1	37.6	36.3	33.6
% de cambio	-16.7**	-8.5	10.0	19.3*	17.9*	6.9	17.7*	6.5	12.1***	-1.6	4.2	5.3	3.1	4.0

Los resultados son la $\bar{X} \pm \text{EE}$; MA: eje mayor, ME: eje menor; Ps: dendritas perisomáticas; I: inicial, M: medial, T: terminal
Pruebas estadísticas: "t" de Student y U de Mann Whitney. *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001.

del 14% ($p < 0.05$) en el tamaño del eje mayor del soma; seguido de un decremento significativo entre las edades de 90 y 220 días del 17% ($p < 0.01$). En relación al eje menor del soma, se observó un aumento significativo del del 10% ($p < 0.05$) en los animales control entre los 30 y 90 días de de edad (Tabla II).

En animales control entre los 90 y los 220 días de edad, se presentaron incrementos significativos de 17% ($p < 0.05$), en el número de dendritas que intersecaron el tercer, cuarto y quinto círculos, y del 12% ($p < 0.001$), en el número total de dendritas. En los animales desnutridos los cambios observados en estas mismas edades fueron: incrementos significativos del 19% ($p < 0.05$), en el número de dendritas que intersecaron el primer círculo; del 17% ($p < 0.05$), en el número de dendritas que intersecaron el segundo círculo; del 18% ($p < 0.05$) en el número de dendritas que intersecaron el cuarto círculo concéntrico; y del 12% ($p < 0.001$) en el número total de dendritas.

La densidad de espinas, no presentó ningún cambio significativo (Tabla II).

Finalmente, en los animales control entre los 90 y 220 días de edad, se presentó un incremento significativo del 11% ($p < 0.05$), en la extensión lineal de las células granulares del GD (Tabla II).

G. Alteraciones conductuales en la rata desnutrida.

El registro de las conductas de acicalamiento, exploración, locomoción y no locomoción que se realizó de 8:00 a 9:00 am durante la

fase de reposo LO 12:12 (L 8:00-20:00 hrs) en animales control y desnutridos, mostró un valor promedio de 6 minutos (rango: 1 - 11 min) en la conducta de acicalamiento de los animales normales y un promedio de 5 min (rango: 0 - 12 min) en los animales desnutridos. Con respecto a la conducta exploratoria, se obtuvieron los promedios de 3 min (rango: 0 - 6 min) y 2 min (rango: 1 - 6 min) para el grupo control y experimental respectivamente. Para la conducta de locomoción, los promedios obtenidos fueron de 23 min (rango: 1 - 46 min) para el grupo control y de 24 min (rango: 20 - 27 min) para el grupo experimental; mientras que para la conducta de no locomoción se obtuvieron los siguientes valores: 29 min (rango: 6 - 52 min) y de 33 min (rango: 21 - 40 min) para el grupo control y experimental respectivamente.

Para el registro de las conductas ya mencionadas que se realizó de 14:00-15:00 hrs, se obtuvieron los siguientes resultados: un promedio de 8 min (rango: 2 - 11 min) para el grupo control, y de 1 min (rango: 0 - 4 min) para el grupo experimental en la conducta de acicalamiento, observándose un decremento del 84% de esta conducta en los animales desnutridos, el cual resultó significativo ($p < 0.02$). Los promedios obtenidos de la conducta exploratoria fueron de 6 min (rango: 2 - 11 min) para el grupo control, y de 2 min (rango 0 - 8 min) para el grupo experimental, con un decremento del 96%, el cual resultó significativo $p < 0.05$). Por otro lado las conductas de locomoción y no locomoción presentaron incrementos no significativos, obteniéndose un promedio de 20 min (rango: 5 - 33 min) y de 23 min (rango: 5 - 58 min); de 26 min (rango: 12 - 51 min) y de 32 min (rango: 1 - 44 min) para el grupo control y experimental respectiva-

vamente en cada una de las conductas mencionadas.

Por último, en el registro conductual de las 19:00 a 20:00 hrs, se obtuvieron los siguientes promedios: para la conducta de acicalamiento, los valores fueron de 6 min (rango: 2 - 8 min) y de 4 min (rango: 0 - 7 min) para el grupo control y experimental respectivamente. Para la conducta de exploración se obtuvo una media de 6 min (rango: 3 - 11 min) para el grupo control y de 3 min (rango: 0 - 11) para el experimental. Con respecto a la locomoción se encontraron valores promedio de 24 min (rango: 7 - 35 min) y de 16 min (rango: 6 - 26 min) para el grupo control y experimental respectivamente. Finalmente se obtuvieron promedios de 25 min (rango: 16 - 42 min) y de 37 min (rango: 17 - 47 min) en la conducta no locomotora del grupo control y experimental respectivamente (Fig. 14).

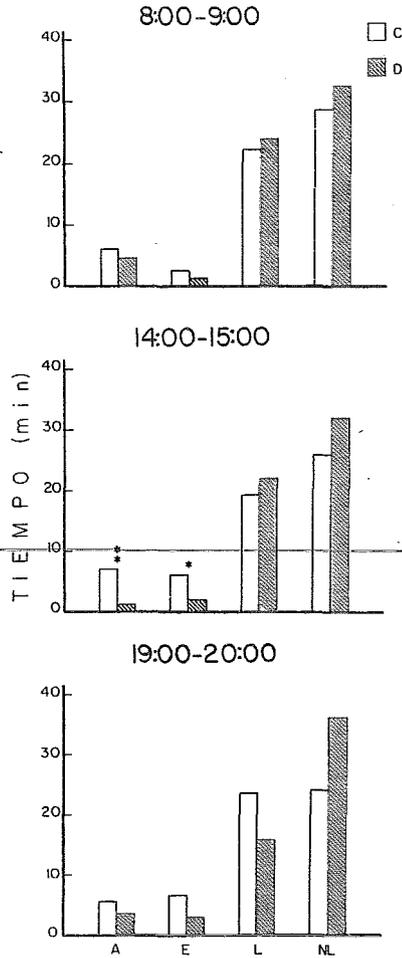


Fig. 14. Análisis de las conductas de acicalamiento (A), exploración (E), locomoción (L) y no locomoción (NL) observadas en animales control (C) y desnutridos (D) a la edad de 30 días. Dichas conductas fueron observadas en tres horas diferentes (8:00-9:00; 14:00-15:00 y de 19:00-20:00 hrs) de la fase de reposo del ciclo LD (Luz: 8:00- 20:00 hrs). Obsérvese el decremento significativo que presentan los animales desnutridos en las conductas de acicalamiento y exploración, de 14:00-15:00 hrs. * $P < 0.05$, ** $P < 0.02$. Prueba U de Mann Whitney.

DISCUSION.

Los datos obtenidos del estudio de las células granulares del giro dentado en cuanto a los patrones neuronales del tamaño del soma, de la extensión lineal y de la densidad de las ramas y espinas dendríticas en animales desnutridos, mostraron en general reducciones en dichas estructuras, lo cual sugiere que si el substrato anatómico es deficiente, resultarán deficientes las conductas reguladas por el hipocampo, entre ellas la discriminación espacial, la memoria y el aprendizaje. Estos hallazgos también se relacionan con los estudios de Smart y Dobbing (1974), quienes encontraron una reducción en el número de sinapsis en las células del hipocampo en animales desnutridos. El tamaño del soma se redujo en su eje mayor a la edad de 30 días, debido quizá a que éstas células presentan su proceso de crecimiento celular durante el periodo crítico, además ésta reducción en nuestros resultados persistió hasta los 220 días de edad, en la cual también se encontró reducida la extensión lineal de la dendrita más larga.

Por otra parte, la densidad dendrítica que es el sitio en donde convergen las fibras de asociación, también se encontró reducida significativamente a la edad de 30 días en las 38 μm de extensión y a las 110 μm en los animales de 220 días, lo que permite suponer que el animal desnutrido presenta un mayor empaquetamiento celular en menor volumen de tejido. Sin embargo, el número total de dendritas se redujo solamente a los 30 días posnatales reflejando el desarrollo de las células granulares hasta las edades juveniles y adultas (Bayer y

cols., 1982).

La observación cualitativa de la distribución dendrítica diferente en los animales desnutridos, puede explicarse debido a la respuesta plástica de estas células a la desnutrición crónica empleada en el presente estudio, y manifestada como una reducción de la extensión lineal dendrítica y menor ramificación de las mismas, en comparación con aquella distribución cónica de los animales normales (Fig. 9).

Se sabe que el GD recibe aferencias desde la corteza entorinal, las cuales llegan al estrato molecular de las células granulares por medio de las fibras del patrón perforante (Bayer, 1985). En nuestros resultados se encontró una reducción del número de espinas en el segmento terminal de las dendritas a los 30 y 90 días de edad, lugar donde llegan dichas fibras, por lo que éste decremento podría ser el resultado de un retraso en el desarrollo y la mielinización de las fibras del patrón perforante hacia el GD.

Las aferencias del tallo cerebral que terminan en la porción polimorfa o región hilar y las fibras colaterales provenientes del NLC terminan en la porción basal de las células granulares, las cuales en nuestro estudio no mostraron cambios en la densidad de las espinas. Sin embargo el número de las ramas primarias, se encontró reducido a la edad de 30 días. Debido quizás a que el patrón de crecimiento celular y dendrítico se vió retardado por la desnutrición crónica utilizada en este estudio.

Los cambios anatómicos encontrados en nuestro estudio mostraron que el tamaño de las células granulares aumentó con la edad entre 30 y 90 días y luego se encontró un decremento del eje mayor entre los 90 y 220 días en los animales normales. Por el contrario los desnutridos mostraron aumento entre los 30 y 90 días y una disminución entre los 90 y los 220 días pero sólo en el eje mayor, nuevamente, estos cambios de reducción tanto en los controles como en los desnutridos podrían explicarse en el sentido de que las células granulares son afectadas por la edad y por la desnutrición. Los desnutridos por otra parte mostraron un retraso en este patrón debido al empaquetamiento celular producido por la desnutrición. En relación a los efectos en la densidad dendrítica y a la extensión lineal de la dendrita más larga, se encontró en la primera, un aumento en los animales normales de 90 y 220 días en los últimos círculos (del 3o al 5o círculos) así como su densidad dendrítica total. En los desnutridos este incremento se localizó entre el 1o, 2o, y 4o círculos tanto como en su densidad dendrítica total; la extensión dendrítica total sólo se incrementó en los animales normales. Este hecho puede explicarse debido a que las células granulares del control son más ramificadas y extendidas ya que no existe el empaquetamiento celular encontrado en los desnutridos, sin embargo se manifiesta un alto grado de plasticidad en las células granulares de los desnutridos, la que posiblemente no se pierde en las ratas adultas expuestas a un largo periodo de desnutrición.

A partir de los registros conductuales pudimos ver que los animales desnutridos pre y posnatalmente a los 30 días, mostraron una disminución significativa en la conducta de acicalamiento en este modelo. Sin embargo, dicha conducta no ha sido investigada

detalladamente, pero en los estudios de animales desnutridos posnatalmente durante el periodo de desarrollo temprano, muestran una mayor frecuencia de esta conducta en el estado adulto (Salas y Torrero, 1979); la posible explicación a esta discrepancia, se basa en el hecho de que el modelo de desnutrición empleado es diferente ya que la desnutrición se implantó pre y posnatalmente, además por estudios bioquímicos se sabe que hay una alteración de los neurotransmisores involucrados en estas conductas, y el hecho de que estos animales se encontraban implantados en la corteza occipital para un estudio electrofisiológico.

~~Por otra parte la reducción en la conducta de exploración en los~~
animales desnutridos pre y posnatalmente, está de acuerdo con los estudios de Jordan y cols., (1981), quienes describieron el "síndrome del hipocampo" y encontraron que los animales son hiperactivos pero reducen su conducta exploratoria, tanto en medios ambientales normales como en laberintos (Goodlet y cols., 1986). Estas similitudes junto con los hallazgos anatómicos del presente trabajo sugieren que el GD, posiblemente participa en la regulación de esta conducta. Un experimento interesante es aquel en donde se estimuló manualmente a los animales desnutridos posnatalmente y luego se les corrió en una prueba de campo abierto, en donde, al aplicárseles un estímulo sonoro aversivo las ratas se quedaron "congeladas", es decir no respondieron sino hasta después de una latencia mayor que la de los animales normales (Escobar, 1987). Así en términos generales este fenómeno podría correlacionarse con el síndrome del hipocampo en el cual participan las aferencias de la corteza entorinal al GD (Jordan y cols., 1982).

Por otro lado sabemos que la desnutrición también altera otros patrones de conducta compleja de gran plasticidad, tal es el caso de la memoria y el aprendizaje. En relación a ésta última Jordan y cols. (1981), realizaron un estudio sobre los efectos de la desnutrición en ratas y encontraron diferencias significativas con respecto al tiempo que tardaban para realizar tareas referentes a la memoria espacial, concluyendo que la desnutrición temprana afecta la habilidad de aprendizaje espacial en las ratas, lo cual quizás distorsiona el crecimiento normal de los patrones del hipocampo. Además estos mismos investigadores, realizaron otro estudio (1982) en el que comprobaron los datos anteriores, y encontraron que el ritmo theta y su umbral permanecieron intactos. Por lo tanto la alteración conductual no se debe aparentemente a una deficiencia simple en el control de este ritmo, sino que es más probable que se encuentre relacionada con las interacciones neuronales a nivel sináptico, ya que se observó que los campos CA1, CA3, CA4 y el GD presentaron decrementos en el número de células.

Por otra parte en los estudios de la potenciación a largo plazo, en los que se estimuló con alta frecuencia al patrón perforante, se encontró una disminución de dicha potenciación en los animales adultos desnutridos pre y posnatalmente con una dieta de 6% de caseína (Austin y cols., 1986). Una correlación interesante de estos estudios electrofisiológicos fué propuesta por Perrin y cols., (1974), en la cual el hipocampo también contribuye al estado de vigilia mediante dos mecanismos, uno en donde participa la formación reticular modulando las vías aferentes específicas, y otro en el que participa el hipocampo analizando la información sensorial para dirigir la atención

y la conducta; por lo que la desnutrición pudiera interferir con este mecanismo como se ha demostrado en los estudios del ciclo sueño y vigilia por Cintra (1985).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que la desnutrición genera cambios importantes en las células granulares del GD, produciendo en general una reducción de su sinaptogénesis representada por la disminución en la densidad de las ramas y espinas dendríticas, lo cual puede interferir con los procesos funcionales regulados por dichas células; como la discriminación espacial, la memoria y el aprendizaje alterándose como consecuencia la conducta de adaptación de los animales desnutridos. Sin embargo, serán necesarios más estudios anatómicos, electrofisiológicos y conductuales que nos permitan interpretar más adecuadamente los cambios mencionados a nivel del hipocampo.

CONCLUSIONES

1. El estudio anatómico de las células granulares del labio dorsal del GD de los animales desnutridos reveló una reducción significativa en el eje mayor del soma que persistió hasta los 220 días de edad. Además, a esta edad se presentó una reducción significativa en la extensión lineal de la dendrita más larga. Estos resultados están de acuerdo con estudios previos en los que se ha comprobado que la desnutrición reduce el crecimiento de las dendritas; los efectos en el soma probablemente se debieron al pequeño volumen de tejido en el cual son empaquetadas las células.
2. La desnutrición redujo significativamente el número de dendritas en el primer círculo concéntrico a los 30 días de edad, sin embargo a los 220 días ésta reducción se localizó en el tercer círculo concéntrico y el número total de dendritas se disminuyó significativamente a los 30 días posnatales. Los efectos de la desnutrición en el desarrollo posnatal de las células granulares, persistieron hasta los estados juvenil y adulto de la rata.
3. La densidad de espinas se redujo significativamente en el segmento terminal de la dendrita más larga en las células granulares a los 30 y a los 90 días de edad. Estos resultados sugieren que la desnutrición pudo interferir con la mielinización de las fibras del patrón perforante.

4. Los cambios debidos a la edad, mostraron en los animales normales y desnutridos que el tamaño del soma de las células granulares se incrementó significativamente entre los 30 y los 90 días, y posteriormente se redujo significativamente a los 220 días. En general los animales control y desnutridos incrementaron significativamente su densidad dendrítica entre los 90 y los 220 días. La extensión lineal fué incrementada únicamente en los animales control entre dichas edades. Estos resultados sugieren la existencia de un alto grado de plasticidad en las células granulares, que posiblemente no se pierde en las ratas adultas expuestas a un periodo largo de desnutrición.

5. Las observaciones de diversas conductas que se efectuaron a la edad de 30 días, mostraron reducciones significativas en las conductas de acicalamiento y exploración de los animales desnutridos. Los hallazgos podrían relacionarse en el primer caso con el modelo de desnutrición pre y posnatal empleado, así como a que los animales se encontraban implantados para un estudio electrofisiológico. En lo referente a la reducción de la exploración, ésta ya ha sido reportada por otros autores.
6. Finalmente, los hallazgos en las células granulares del labio dorsal del GD del hipocampo pudieran parcialmente explicar algunas de las deficiencias funcionales reportadas en la discriminación espacial, la memoria y el aprendizaje de los animales desnutridos.

REFERENCIAS

- 1 Altman, J. y Bayer, S., Postnatal development of the hippocampal dentate gyrus under normal and experimental conditions. In R.L. Isaacson y K.H. Pribram (eds.), *The hippocampus*, Plenum Press, New York, 1975, pp. 95-122.
- 2 Altman, J. y Das, G.D., Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats., *J. Comp. Neurol.*, 124 (1965) pp. 319-336.
- 3 Altman, J., Das, G.D. y Sudarshan, K., The influence of nutrition on neural and behavioral development., *Develop. Psychobiol.*, 3 (1970) pp. 281-301.

- 4 Amaral, D.G., A Golgi study of cell types in the hilar region of the hippocampus in the rat., *J. Comp. Neurol.*, 182 (1978) pp. 851-914.
- 5 Amaral, D.G. y Campbell, M.J., Transmitter systems in the primate dentate gyrus., *Human Neurobiol.*, 5 (1986) pp. 169-180.
- 6 Angevine, J.B., Development of the hippocampal region. In R.L. Isaacson y K.H. Pribram (eds.), *The hippocampus*, Plenum Press, New York, 1975, pp. 61-94.
- 7 Austin, K.B., Bronzino, J. y Morgane, P.J., Prenatal protein affects synaptic potentiation in the dentate gyrus of rats in adulthood., *Develop. Brain Res.*, 29 (1986) pp. 267-273.
- 8 Bayer, S.A., Hippocampal region. In (ed.), *The rat nervous system.*, Academic Press., USA., 1985, pp. 335-352.
- 9 Bayer, S.A., Yackel, J.W. y Puri, P.S., Neurons in the rat dentate gyrus granular layer substantially increase during juvenile and adult life., *Science*, 216 (1982) pp. 890-892.
- 10 Bok, S.T., *Histonomy of the cerebral cortex* Elsevier Pub. Co., New York, 1959.

- 11 Braak, H., On the structure of human archicortex., *Tiss. Res.*, 152 (1974) pp. 349-383.
 - 12 Bronzino, J.D., Austin-Lafrance, R.J., Siok, C.J. y Morgane, P.J., Effect of protein malnutrition on hippocampal kindling: electrographic and behavioral measures., *Brain Res.*, 384 (1986) pp. 348-354.
 - 13 Chronister, R.B. y White, L.E., Fibers architecture of the hippocampal formation: Anatomy; projections and structural significance. In R.L. Isaacson y K.H. Pribram (eds.), *The hippocampus*, Plenum Press, New York, 1975. pp. 9-39.
 - 14 Cintra, L., Efectos de la desnutrición proteínica en el ciclo sueño-vigilia y su ritmicidad circádica en la rata. UNAM, México, D.F., 1985.(Tesis Doctoral)
-
- 15 Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P. J., Nucleus locus coeruleus: a morphometric Golgi study in the rat of three age groups., *Brain Res.*, 247 (1982) pp. 17-28.
 - 16 Cordero, M.A., Díaz, G. y Araya, J., Neocortex development during severe malnutrition in the rat., *The American J. Clin. Nut.*, 29 (1976) pp. 358-365.
 - 17 Desmond, N.L. y Levy, W.B., Changes in the numerical density of synaptic contacts with long-term potentiation in the hippocampal dentate gyrus., *J. Comp. Neurol.*, 253 (1986a) pp. 466-475.
 - 18 Desmond, N.L. y Levy, W.B., Changes in the postsynaptic density with long-term potentiation in the dentate gyrus., *J. Comp. Neurol.*, 253 (1986b) pp. 476-482.
 - 19 Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P. J., Nucleus raphe dorsalis: A morphometric Golgi study in rats of three age groups., *Brain Res.*, 207 (1981a) pp. 1-16.
 - 20 Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y 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 (1981b) pp. 243-255.

- 21 Duffy, C.J. y Rakic, P., Differentiation of granule cell dendrites in the dentate gyrus of the rhesus monkey: A quantitative Golgi study, *J. Comp. Neurol.*, 214 (1983) pp. 224-237.
- 22 Escobar, B.C., Efectos de la desnutrición y de la estimulación sensorial temprana sobre el desarrollo y la conducta de la rata., Tesis, UNAM, (1987) pp. 1-58.
- 23 Finch, D.M., Wong, E., Derian, E.L. y Babb, T.L., Neurophysiology of limbic system pathways in the rat: Projections from the subicular complex and hippocampus to the entorhinal cortex., *Brain Res.*, 397 (1986) pp. 205-213.
- 24 Fish, I. y Winick, M., Effect of early malnutrition on regional growth of the developing rat brain., *Exp. Neurobiol.*, 25 (1969) pp. 534-540.
- 25 Gaarskjaer, F.B., Organization of the mossy fiber system of the rat studied in extended hippocampi., *J. Comp. Neurol.*, 178 (1978) pp. 49-72.
- 26 Goodlett, C.R., Valentino, M.L., Morgane, P.J. y Resnick, O., Spatial cue utilization in chronically malnourished rats: task-specific learning deficits., *Develop. Psychobiol.*, 19 (1986) pp. 1-15.
- 27 Hall, R.D., The role of body size in climbing and locomotor behavior of protein-malnourished and well-nourished rats., *Develop. Psychobiol.*, 17 (1984) pp. 91-106.
- 28 Jeantet, Y. y Jaffard, R., Influence of the medial septal nucleus on the excitability of the commissural path-CA1 pyramidal cells synapse in the hippocampus of freely moving mice., *Neurosci.*, 8 (1983) pp. 291-297.
- 29 Jordan, T.C., Cane, S.E. y Howells, K.F., Deficits in spatial memory performance induced by early undernutrition., *Develop. Psychobiol.*, 4 (1981) pp. 317-325.
- 30 Jordan, T.C. y Clark, G.A., Early undernutrition impairs hippocampal long-term potentiation in adults rats., *Behav. Neurosci.*, 97 (1983) pp. 319-322.



- 31 Jordan, T.C., Howells, K.F., McNaughton, N. y Heatlie, P.L., Effects of early undernutrition on hippocampal development and function., Res. Exp. Med., 180 (1982) pp. 201-207.
- 32 Juraska, J.M., Fitch, J.M., Henderson, C. y Rivers, N., Sex differences in the dendritic branching of dentate granule cells following differential experience., Brain Res., 333 (1985) pp. 73-80.
- 33 Kanarek, R.B. y Shoenfeld, P.M., Maternal malnutrition in the rat: Effects on food intake and body weight., Physiol. Behav., 38 (1986) pp. 509-515.
-
- ~~34 Krigman, M.R. y Hogan, E.L., Undernutrition in the developing rat: effect upon myelination., Brain Res., 107 (1976) pp. 239-255.~~
- 35 Leuba, G. y Rabinowicz, T.H., Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex (I)., Exp. Brain Res., 37 (1979a) pp. 283-298.
- 36 Leuba, G. y Rabinowicz, T.H., Long-term effects of postnatal undernutrition and maternal malnutrition on mouse cerebral cortex (II)., Exp. Brain Res., 37 (1979b) pp. 299-308.
- 37 Levitsky, D.A. y Barnes, R.H., Nutritional and enviromental interactions in the behavioral development of the rat, Science, 176 (1972) pp. 68-71.
- 38 Lorente de Nó, R., Studies on the structure of the cerebral cortex. Continuation of the study of the ammonic system., Psychol. 46 (1934) pp. 113-117.
- 39 Morgane, P.J., Kemper, T., Cintra, L. y Diaz-Cintra, S., Out-of-phase development of dendritic spines in locus coeruleus and nucleus raphe dorsalis in rat of three age groups., Brain Res., 4 (1982) pp. 487-490.
- 40 Morgane, P.J., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Hall, R., Bronzino, J. y Kissanae, J., The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat., Neuroci. Behav. Rev., 2 (1978) pp. 137-230.

- 41 Olton, D.S., Walker, J.A. y Gage, F.H., Hippocampal connections and spatial discrimination., *Brain Res.*, 139 (1978) pp. 295-308.
- 42 Perrin, G.R., Livingston, K.E. y Escobar, A., The hippocampal contribution to arousal., *Bol. Estud. Med. Biol. Méx.*, 28 (1974) pp. 167-178.
- 43 Ramón y Cajal, S., *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertèbres.*, Paris, 1911.
- 44 Ribak, C.E. y Seress, L., Five types of basket cell in the hippocampal dentate gyrus: a combined Golgi and electron microscopic study., *Neurocytol.*, 12 (1983) pp. 577-597.
-
- 45 Salas, M. y Torrero, C., Maternal behavior of rats undernourished in the early postnatal period, *Bol. Estud. Med. Biol. Méx.*, 30 (1979) pp. 237-244.
- 46 Schlander, M., Thomalske, G. y Frotscher, M., Fine structure of GABAergic neurons and synapses in the human dentate gyrus., *Brain Res.*, 401 (1987) pp. 185-189.
- 47 Seress, L., Pyramid-like basket cells in the granular layer of the dentate gyrus in the rat., *J. Anat.*, 127 (1978) pp. 163-168.
- 48 Seress, L. y Pokorny, J., Structure of the granular layer of the rat dentate gyrus. A light microscopic and Golgi study., *J. Anat.*, 133 (1981) pp. 181-195.
- 49 Sholl, D.A., *The organization of the cerebral cortex.* John Wiley & Sons, New York, 1956.
- 50 Smart, J.L., Activity and exploratory behavior of adult offsprings of undernourished mother rats., *Dev. Psychobiol.*, 7 (1974) pp. 315-321.
- 51 Smart, J.L. y Dobbing, J., Further studies of body growth and brain development in "small for dates" rats, *Biol. Neonate*, 25 (1974) pp. 135-150.

- 52 Sobotka, T.M., Cook, M.P. y Brodis, R.E., Neonatal malnutrition: Neurochemical, hormonal and behavioral manifestations., *Brain Res.* 65 (1974) pp. 443-457.
- 53 Swanson, L.W. y Cowan, W.M., An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat., *J. Comp. Neurol.*, 172 (1977) pp. 49-84.
- 54 Vinogradova, O.S., Functional organization of the limbic system in the process of registration of information: facts and hypothesis. In R.L. Isaacson y K.M. Pribram (eds.), *The hippocampus*, Plenum Press., New York, 1975, pp. 28-32.
- 55 Williams, R.S. y Matthysse, S., Morphometric analysis of granule cell dendrites in the mouse dentate gyrus., *J. Comp. Neurol.*, 215 (1983) pp. 154-164.
-
- 56 Zimmer, J. y Gähwiler, B.H., Cellular and connective organization of slice cultures of the rat hippocampus and fascia dentata., *J. Comp. Neurol.*, 228 (1984) pp. 432-446.

H-0061565