



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD

**EFECTO DE LA MALNUTRICIÓN E INTOXICACIÓN POR
PLOMO EN LA LIPOPEROXIDACIÓN DEL CEREBRO DE
RATA NEONATA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADO EN NUTRICIÓN**

PRESENTA:

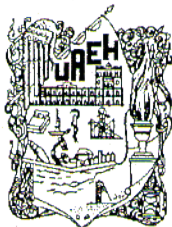
BRENDA GABRIELA MALDONADO CEDILLO

DIRIGIDA POR:

DRA. SOFÍA YOLANDA DÍAZ MIRANDA



2010



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**



De acuerdo con el artículo 134 del Reglamento de Control Escolar vigente, el jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión la Tesis titulada

“Efecto de la malnutrición e intoxicación por plomo en la lioperoxidación del cerebro de rata”.

Que para obtener el Título de Licenciado de Nutrición sustenta la Pasante

C. Brenda Gabriela Maldonado Cedillo

**ATENTAMENTE
Pachuca, Hidalgo, 23 de Marzo del 2010
“Amor, Orden y Progreso”**

PRESIDENTE	DR. EDUARDO OSIRIS MADRIGAL SANTILLÁN.
SECRETARIO	DR. LUIS DELGADO OLIVARES
PRIMER VOCAL	M. EN N.H. AMANDA PEÑA IRECTA
SEGUNDO VOCAL	DR. GABRIEL BETANZOS CABRERA
TERCER VOCAL	DRA. SOFÍA YOLANDA DÍAZ MIRANDA.
PRIMER SUPLENTE	DR. JAVIER VILLANUEVA SÁNCHEZ
SEGUNDO SUPLENTE	M. EN N.H. ZULI CALDERÓN RAMOS

AGRADECIMIENTOS

Institucionales

Por el apoyo brindado al proyecto por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT en su modalidad de apoyo a la licenciatura (No. C121), así como por el PAPIIT-DGAPA, UNAM al proyecto IN202809-3.

Al Instituto de Neurobiología UNAM, departamento de Neurobiología del Desarrollo y Neurofisiología y a la Dra. Sofía Díaz por hacer posible la realización del presente trabajo y brindarme su apoyo y dirección.

Al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN) por las facilidades para llevar a cabo el análisis neuroquímico. Al Jefe del Departamento de Neuroquímica Dr. Camilo Ríos y a la asesoría y ayuda técnica de las Doctoras: Araceli Díaz Ruiz, Sonia Galván Arzarate y Mireya Alcaraz Zubeldía.

A los integrantes del laboratorio

Por la asesoría y ayuda en el manejo de los animales malnutridos y en la preparación de reactivos a la Lic. en Psicología Verónica Tonantzin Pineda Martínez y a las pasantes de la carrera de Nutrición de la UAQ, Gilda Serrano Flores y Mari Carmen Gordo Haros, al Dr. Vicente Beltrán Campos por dedicar su tiempo en la implementación y discusión de los protocolos y por el apoyo técnico de la M en C. Ruth Azucena Aguilar Vázquez, así como el de mis compañeros de laboratorio Irma, Eurídice y Guillermo por sus consejos y aportaciones y a la Dra. Ivett Medina Aguirre por el apoyo y asesoría en otras técnicas así como consejos que ayudaron a mejorar la presente tesis.

A los técnicos académicos de las Unidades de Apoyo del INB

Bioterio, MVZ Martín García Servin, por el soporte del manejo de los animales y de la Unidad de Microscopía a la Biol. Lorena Ma. L. López Sánchez para el manejo de muestras histológicas.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis con todo mi amor respeto y admiración a mis padres, hermanos y abuelos por apoyarme incondicionalmente en todas mis decisiones, por los consejos y el amor familiar que demuestran por mí. Sólo quiero que sepan que son parte de los logros y el aprendizaje a lo largo de mi vida porque gracias a su esfuerzo y aliento motivaron cada una de las acciones realizadas.

A mi madre por ser la mejor amiga y confidente que tengo y tendré por siempre, a mi padre por todas las noches de sacrificio y desvelo, por el apoyo aún en las situaciones difíciles.

A mis hermanos por hacer el hogar el mejor lugar en donde se puede estar a Javier por su humor y motivación, a mi abuela por su ternura y amor incondicional y a Lore por su cariño y atenciones.

A mis amigos, por su cariño, por la diversión y por todo su apoyo a Inari, Marlen y Nancy que han sido y seguirán siendo de mis mejores amigas.

A mis compañeras de casa Elvis y Laurita a quienes admiro y quiero mucho.

A la doctora Sofía que me abrió las puertas de su laboratorio durante y después del servicio social, por todas las atenciones, ayuda, consejos, apoyo económico, pero sobre todo por creer en mi y por hacer que aún en el trabajo y en cualquier situación me sienta a salvo y como en casa.

y finalmente a Auhitz por su cariño, amor y apoyo durante mi estancia en Querétaro, por creer en mi y motivarme, por ayudarme en muchas situaciones y sobre todo porque siempre ocupará un lugar especial en mi corazón.

I RESUMEN

La malnutrición (M) prenatal como la intoxicación por plomo (Pb) son factores que intervienen sobre el desarrollo neuronal; ambos inducen el desbalance entre las moléculas pro y antioxidantes (estrés oxidativo); el cual afecta los fosfolípidos de la membrana neuronal. El objetivo de este trabajo fue demostrar la susceptibilidad de diferentes áreas cerebrales al estrés oxidativo inducido por la M y por la intoxicación por Pb o por la combinación de ambos factores en ratas recién nacidas. La M se indujo en ratas alimentadas con una dieta isocalórica e hipoproteica (6% de caseína) durante 4 semanas antes del apareamiento y gestación. La intoxicación con Pb se realizó a través del consumo de agua (160ppm de acetato de Pb) desde el primer día de la gestación hasta el término de la misma. Se registró el índice de la ganancia del peso corporal de las madres a lo largo de la gestación y de los neonatos al momento del nacimiento así como el peso cerebral. Se separaron cuatro regiones (corteza frontal, estriado, cerebelo e hipocampo) para el estudio bioquímico de los productos fluorescentes de la lipoperoxidación (LP). La comparación en las madres y en las crías se realizaron formando 4 grupos: C, control con alimentación normal e intoxicadas con plomo (CPb); malnutridas (M) e intoxicadas con plomo (MPb). Los resultados muestran un incremento significativo en el índice de las madres MPb con relación a los demás grupos y un decremento significativo de los pesos corporal y cerebral de las crías con respecto al resto de los grupos. La medición de los productos de LP en los diferentes grupos de las cuatro áreas estudiadas mostraron efectos significativos de manera diferencial para cada estructura estudiada. Así, el hipocampo fue el área más afectada con incremento significativo de la LP debido a la M, seguida del estriado y el cerebelo. El análisis de la combinación de ambos factores (M y Pb) mostró un incremento significativo en la LP de las cuatro áreas estudiadas. Así, este modelo simula las condiciones epigenéticas (nutrición e intoxicación) que se ha desarrollado en algunas poblaciones y pueden ser factores de riesgo para propiciar alteraciones en las funciones cerebrales.

ABSTRACT

Prenatal malnutrition and lead intoxication have effects on neuronal development; one of the cellular mechanisms involved is a disruption of the balance between pro- and anti-oxidative molecules. In neurons, membrane phospholipids are highly vulnerable to being damaged. Thus, the aim of this study was to demonstrate the susceptibility of different areas of newborn rat brain to the oxidative stress induced either by malnutrition (M), by intoxication with lead (Pb), or through the combination of both conditions. Malnutrition was induced in mothers fed with an isocaloric and hypoproteinic (6% casein) diet during the 4 weeks prior to pregnancy. Intoxication was caused by a dose of 160 ppm lead acetate in drinking water beginning on the first day of gestation. Both the M and Pb models were continued until the day of conception. In newborn rats, the four brain regions selected (frontal cortex, striatum, cerebellum and hippocampus) were dissected out in order to analyze the level of lipid peroxidation (LP) in the following four groups: normally nourished (C); C, intoxicated with lead (CPb); malnourished (M), and M, intoxicated with lead (MPb). Body weight in MPb mothers (index) was significantly higher but body and cerebral weights from MPb newborns were significantly decreased when compared with the other groups. The LP content in the four brain regions analyzed were significantly different. The hippocampus was most affected by M with a significant increase in LP, followed by striatum and cerebellum. The combination MPb group exhibited a significant increase in LP in all four areas evaluated. This model may simulate the epigenetic condition (nutrition and intoxication) frequently observed in human populations, which could be a main risk factor for the brain malfunctions associated with lead intoxication.

ÍNDICE

I. Resumen	iii
Abstract	iv
II. Marco Teórico	
II.1 Introducción al Sistema Nervioso	1
II.1.1 Formación del Sistema Nervioso durante el desarrollo	4
II.1.1.1 Inducción o neurilización	4
II.1.1.2 Proliferación	6
II.1.1.3 Migración	6
II.1.1.4 Organización	7
II.1.1.5 Mielinización	7
II.2 Estructuras cerebrales	
II.2.1 Cerebelo	9
II.2.2 Corteza prefrontal	10
II.2.3 Estriado	10
II.2.4 Hipocampo	12
II.3 Importancia de la nutrición en la función cerebral	12
II.3.1 Malnutrición	14
II.4 Desnutrición	14
II.4.1 Etiología	15
II.4.2 Tipos de desnutrición	15
II.4.2.1 Desnutrición proteínica (Kwashiorkor)	16
II.4.2.2. Marasmo	16
II.5 Efectos de la malnutrición en el SNC de la rata	17
II.6 Efecto de la malnutrición en el hipocampo	18
II.7 Plomo (Pb)	19
II.7.1 Usos del plomo	19
II.7.2 Vías de exposición y absorción	20
II.7.3 Efectos del plomo en el organismo	20
II.7.4. Efectos del Plomo en el SNC	21
II.8 Neurotoxicidad	22
II.8.1 Neuropatías	22
II.8.2 Axonopatías	22
II.8.3 Mielinopatías	23
II.8.4 Interferencia del plomo en otros mecanismos	23
II.9 Estrés Oxidativo	23
II.9.1 Radicales libres (RL)	24
II.9.2 Especies Reactivas	24
II.9.3 Antioxidante	24
II 9.4 Sistemas de defensa antioxidante	25
II.9.5 Sistemas enzimáticos	25
II.9.6 Sistemas no enzimáticos	25
II.9.7 Lipoperoxidación	26
II.9.8 Iniciación, propagación y terminación	27

II.10. Membrana celular	27
II.11. Lipoperoxidación en membranas mitocondriales	28
II.12 Malnutrición y plomo como generadores de estrés oxidativo	29
III. Problema de Investigación	31
IV. Justificación	32
V. Objetivos	33
VI. Hipótesis	33
VII. Diseño Experimental	33
VII. A Animales de experimentación	33
VII. A.1. Registro de pesos corporales	34
VII.B. Obtención del tejido cerebral	35
VII.C Determinación de la lipoperoxidación	35
VII.C.1 Preparación de la muestra	35
VII.C.2 Calibración del espectrofotómetro	36
VII.C.3 Determinación de proteínas por el método de Lowry	36
VIII. Resultados	
VIII.1 Ganancia de pesos durante la gestación	37
VIII.2 Registro de pesos corporales de los neonatos	38
VIII.3 Peso cerebral de los neonatos	39
VIII.4 Lipoperoxidación en corteza	40
VIII.5 Lipoperoxidación en estriado	41
VIII.6 Lipoperoxidación en cerebelo	42
VIII.7 Lipoperoxidación en hipocampo	43
IX Discusión	44
X Conclusiones	48
XI Bibliografía	49
Lista de figuras	56

II. MARCO TEÓRICO

II.1. Introducción al Sistema Nervioso

El sistema nervioso es un conjunto de tejidos de complejidad estructural y funcional que permite el funcionamiento del cuerpo humano y de animales como los murínidos así como la ejecución de actividades intelectuales. Se divide en: Sistema Nervioso Central (SNC), periférico y autónomo. El primero está formado por el encéfalo y la médula espinal, mientras que el segundo se forma a partir de nervios que conectan al encéfalo y a la médula espinal con estructuras periféricas como músculos, epitelios y fibras (figura 1). El sistema nervioso autónomo tiene componentes tanto del sistema nervioso central del periférico y se denomina autónomo porque regula respuestas motoras independientes del control conciente (Haines 2003).

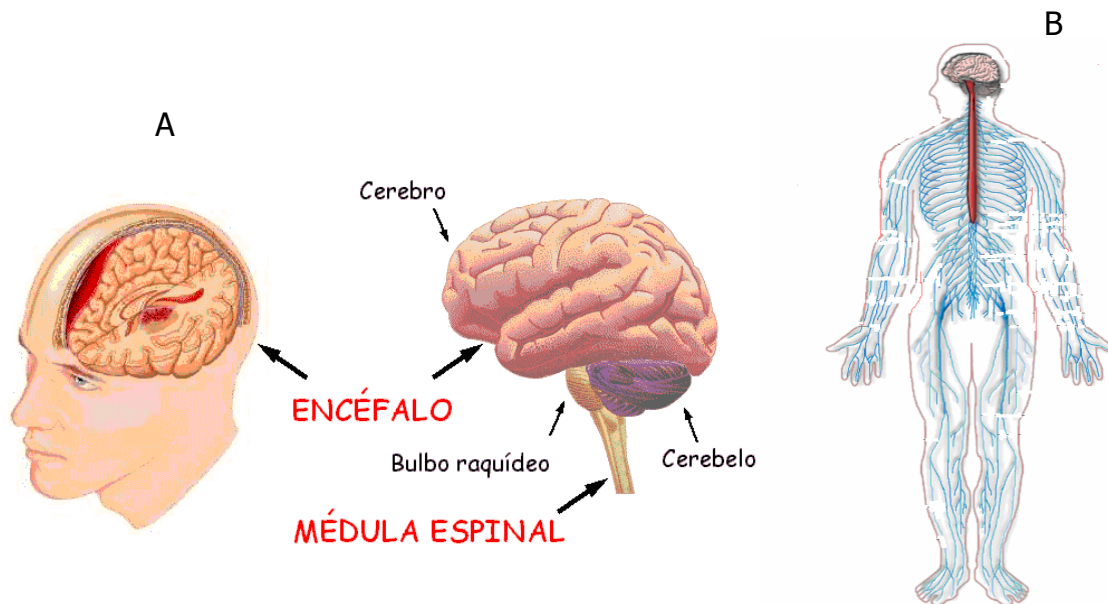


Figura 1. División del Sistema Nervioso: En A se muestran los componentes del Sistema Nervioso Central, el cual comprende al encéfalo y la médula espinal y en B los nervios periféricos propios del sistema nervioso periférico¹.

¹www.juntadeandalucia.es/.../salud/snc.gif

El tejido nervioso se compone de una asociación de células especializadas denominadas neuronas, que son la unidad funcional del tejido nervioso además de las células gliales que se clasifican en dos tipos fundamentales; los astrocitos y los oligodendrocitos, los primeros, proporcionan el medio para la migración neuronal durante el desarrollo del sistema nervioso y en el adulto proveen el soporte, los nutrimentos (glucosa, vitaminas) y oxígeno a las neuronas, mientras que los oligodendrocitos crean una vaina que rodea a los axones (elementos de transmisión de la neurona en el cerebro) para aislarlos electroquímicamente hecho conocido como mielinización y en el sistema nervioso periférico, esta función la llevan a cabo las células de Schwann (figura 2).

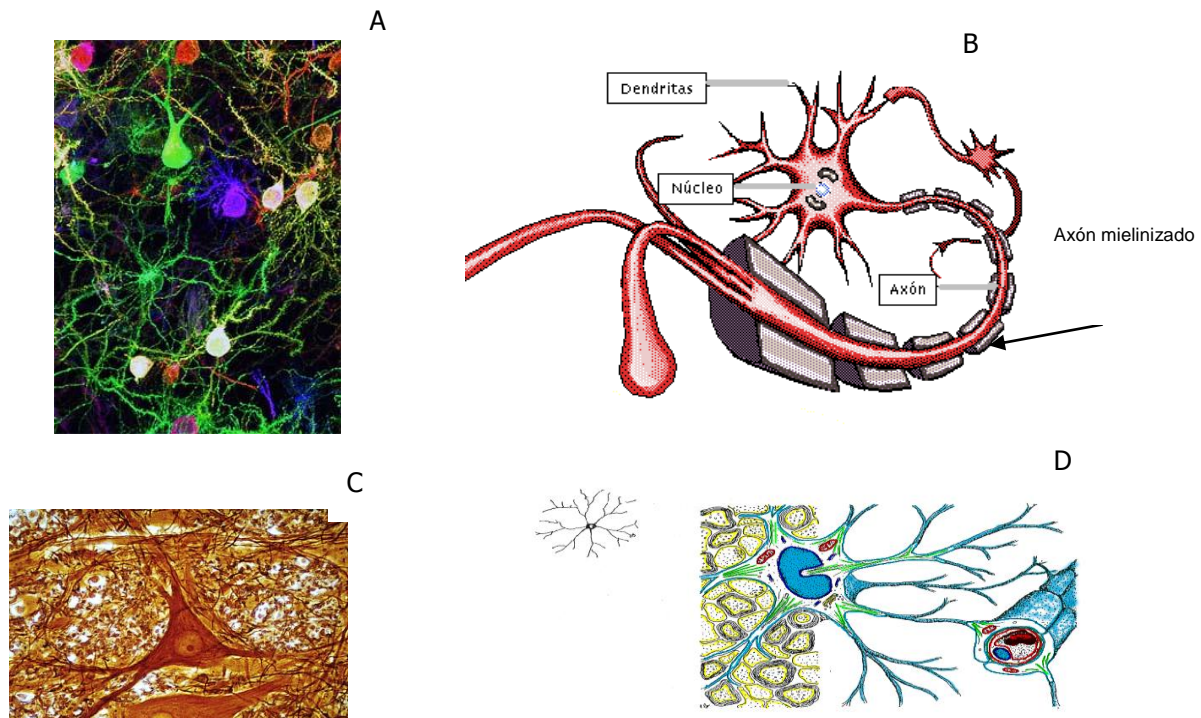


Figura 2. Elementos del tejido cerebral. A, inmunohistoquímica confocal de neuronas y glía; B, neurona mostrando el axón mielinizado (por células de Schwann), sus dendritas y el núcleo; C, tinción argéntica de una motoneurona de gato; D, astrocito con sus pies asociados a un capilar².

²www.monografias.com/.../neuronas/Image825.jpg



Un elemento esencial en el sistema nervioso, es la transmisión de información entre las neuronas impulso nervioso a través de las sinapsis término acuñado por Sherrington a principios del siglo XX y que causó gran controversia entre los investigadores ya que se decía que la comunicación interneuronal se efectuaba por un mecanismo meramente eléctrico. Sin embargo años más tarde se demostró que existen dos tipos de sinapsis: las eléctricas y las químicas. En las primeras, la transmisión se realiza a través de corriente iónica, y la dirección de la transmisión habitualmente es bidireccional aunque existen otras en donde se conduce corriente iónica en una dirección pero no en la opuesta. La función fisiológica de las sinapsis eléctricas es generar respuestas rápidas implicando muchas unidades (figura 3).

La transmisión sináptica química o impulso nervioso se efectúa mediante un neurotransmisor (sustancia química responsable de la transmisión de información) y para que éste sea liberado es necesaria la presencia del calcio al interior de la célula mediante canales de calcio activados por voltaje. En las sinapsis químicas la transmisión es unidireccional y va desde la neurona presináptica a la célula postsináptica (Delgado et al., 1998).

En el SNC una neurona es capaz de recibir un gran número de sinapsis en diversas partes de su estructura y desde el punto de vista funcional se han clasificado a las sinapsis en el SNC en excitadoras e inhibitorias.

Existen muchos neurotransmisores con carácter excitador, pero el más abundante en el SNC es el glutamato (aminoácido implicado en procesos de aprendizaje y memoria) quien interactúa con un receptor aumentando la permeabilidad a iones de sodio y/o calcio en la célula postsináptica (Delgado et al., 1998; Kandel et al., 1998).

En las sinapsis inhibitorias, la activación del receptor postsináptico por el transmisor va dar lugar a un potencial postsináptico inhibitor (por ejemplo el GABA) esto se logra mediante un incremento en la permeabilidad al cloro (Delgado et al., 1998).



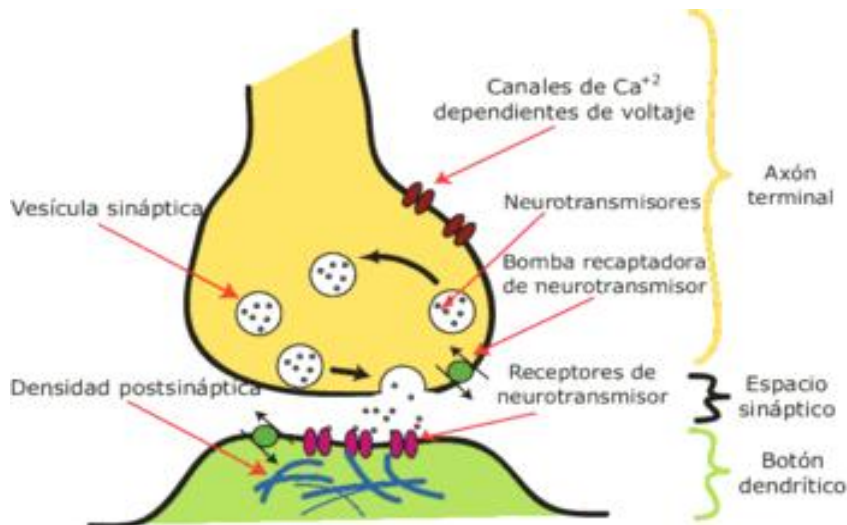


Figura 3. Sinapsis. Los elementos que la conforman (axón, espacio sináptico y botón dendrítico) las sinapsis químicas con la participación de canales dependientes de calcio, receptores de neurotransmisor³.

II.1.1. Formación del Sistema Nervioso durante el desarrollo

La placa neural, formada por células nerviosas progenitoras y tras el fenómeno de neurilización dará origen al tubo neural y éste a su vez al sistema nervioso mediante una serie de procesos como son: inducción, proliferación, migración, organización, mielinización e irrigación (Poch, 2001).

II.1.1.1. Inducción o neurilización

La notocorda, estructura formada a partir de los 16 días de gestación, define y determina la orientación de la columna vertebral, promueve el proceso de inducción formando la placa neural a partir del ectodermo (figura 4). Enseguida comienza la división de las células progenitoras en el extremo anterior del tubo neural, posteriormente se forman vesículas que formaran los tres componentes principales del encéfalo: prosencéfalo (cerebro anterior) mesencéfalo (cerebro medio) y rombencéfalo (cerebro posterior), (figura 5). Entonces se dice que la neurogénesis esta en proceso (formación de neuronas no diferenciadas), primero

³ <http://psicoaraujo.wikispaces.com/file/view/350px-Sinapsis.png/31450261/350px-Sinapsis.png>



en la médula, después en el tallo cerebral y finalmente en el resto del cerebro (Haines, 2003; Poch, 2001).

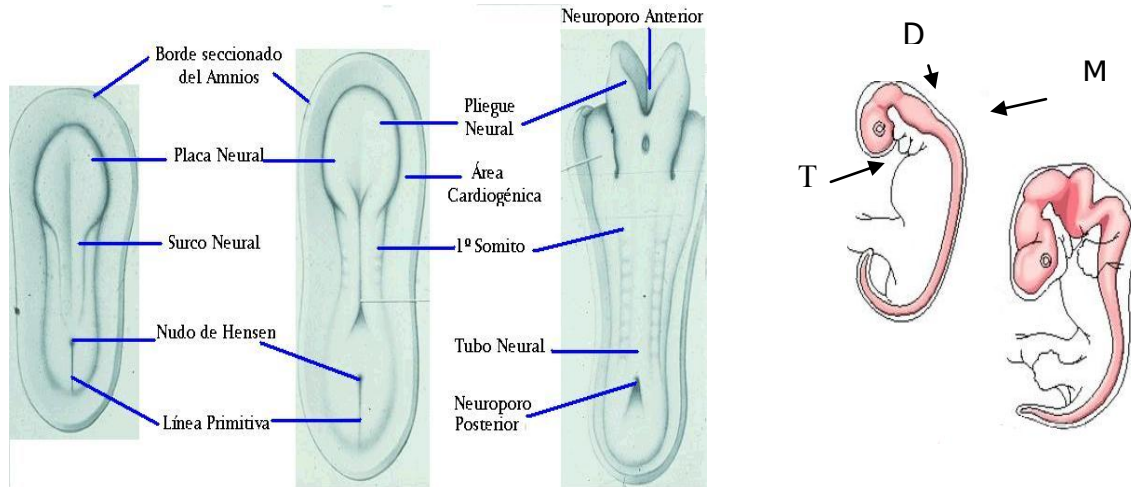


Figura 4. Formación del tubo neural (neurilización). A la izquierda la formación del tubo neural, las placas, los pliegues y el neuroporo. En el esquema de la derecha la formación de las vesículas (telencéfalo (T); diencefalo (D); y mesencéfalo, (M), del sistema nervioso⁴.

Después se originan los ganglios basales, y nervios cerebrales. El prosencéfalo da lugar al telencéfalo quien dará lugar a la corteza cerebral, hipocampo y a otras estructuras como la amígdala. El diencefalo da lugar al tálamo, subtálamo e hipotálamo. El mesencéfalo o cerebro medio no sufre ninguna división, pero el rombencéfalo o cerebro posterior dará lugar al metencéfalo y al mielencéfalo, los que a su vez más tarde formarán el cerebelo (figura 5).

⁴www.med.ufro.cl/.../archivos/2_embriologia.htm



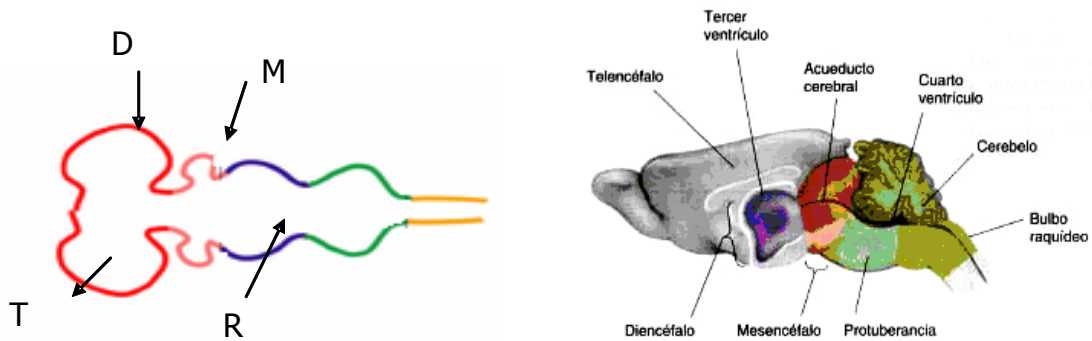


Figura 5. Divisiones del encéfalo de rata. En A, telencéfalo (T) en donde posteriormente se localizarán (B) la corteza cerebral, el diencefalo (D) el sistema límbico con el hipocampo y la amígdala, el mesencéfalo (M) o cerebro medio y el rombencéfalo (R) o cerebro posterior que dará lugar a la protuberancia, al cerebelo y el mielencéfalo (bulbo raquídeo y médula espinal).

II.1.1.2. Proliferación

Se lleva a cabo en lo más profundo del tubo neural, en donde proliferan las neuronas y las células gliales por división repetida. Los neuroblastos son las células precursoras de las neuronas mientras que los glioblastos los son de las células gliales. Es un proceso lento que se inicia a partir del segundo y cuarto mes de gestación y es crítico en el crecimiento cerebral, sin embargo este proceso parece durar toda la vida. Cada región tiene una secuencia de proliferación característica (Haines, 2003).

II.1.1.3. Migración

Se llama migración al proceso de locomoción de las neuronas de la zona periventricular hasta su lugar asignado mediante las células gliales que sirven como medio de transporte. Este proceso ocurre durante el segundo trimestre de la gestación y tras la migración las neuronas dependen de factores genéticos para ordenarse en las distintas capas de la corteza cerebral y cerebelosa (Poch, 2001).



II.1.1.4. Organización

La organización es el mecanismo por el cual las dendritas y sus ramificaciones (espinas dendríticas) forman conexiones nerviosas (sinapsis), además de disponerse en capas el número de conexiones aumenta y se especializan. Este proceso da inicio a los seis meses de gestación y dura toda la vida, sin embargo este proceso se acelera durante los dos años de vida y disminuye posteriormente. La ramificación dendrítica depende de la interacción con los estímulos del entorno, así como de cada sistema (Haines, 2003; Poch, 2001).

II.1.1.5. Mielinización

La mielina, producida por los oligodendrocitos, en el SNC y por las células de Schwann en los nerviosos periféricos, permite la conducción nerviosa indispensable para la ejecución de diversas actividades motoras e intelectuales. Durante la mielinización, el axón es envuelto de mielina y en donde factores genéticos, nutricionales y agentes tóxicos alteran este proceso (Alemán-Alemán, 2005).

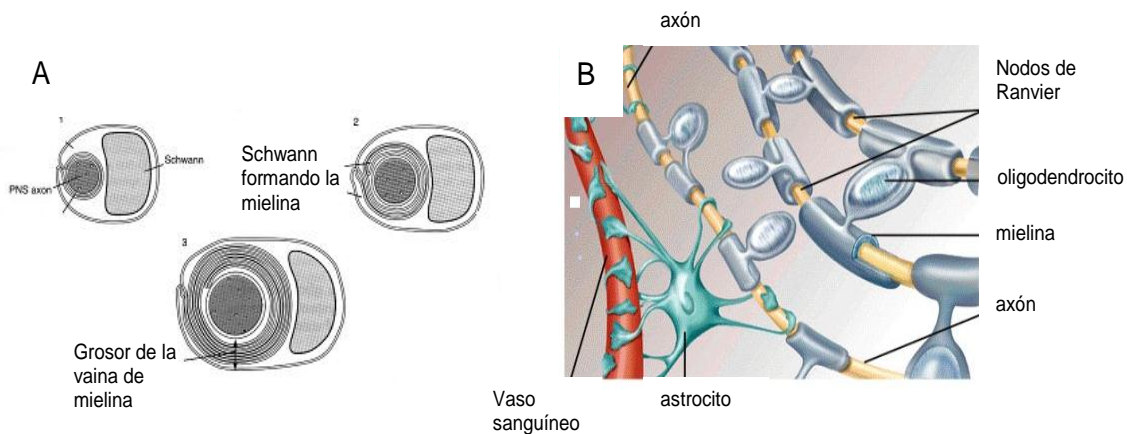


Figura 6. Mielinización y elementos. En A, mielinización (1-3) por la célula de Schwann en un nervio periférico (cortado transversalmente) en B, mielinización por oligodendrocitos en el SNC y astrocitos asociados a un vaso sanguíneo para proveer de nutrientes al axón⁵.

⁵www.monografias.com/.../neuronas/Image825.jpg



La formación del SNC es diferente en mamíferos, pero para el caso del hombre y la rata se puede establecer una analogía ya que, los procesos de macro, micro y gliogénesis comienzan a desarrollarse desde la gestación y continúan después del nacimiento y los procesos de mielina y sinaptogénesis en el periodo posnatal (figura 7).

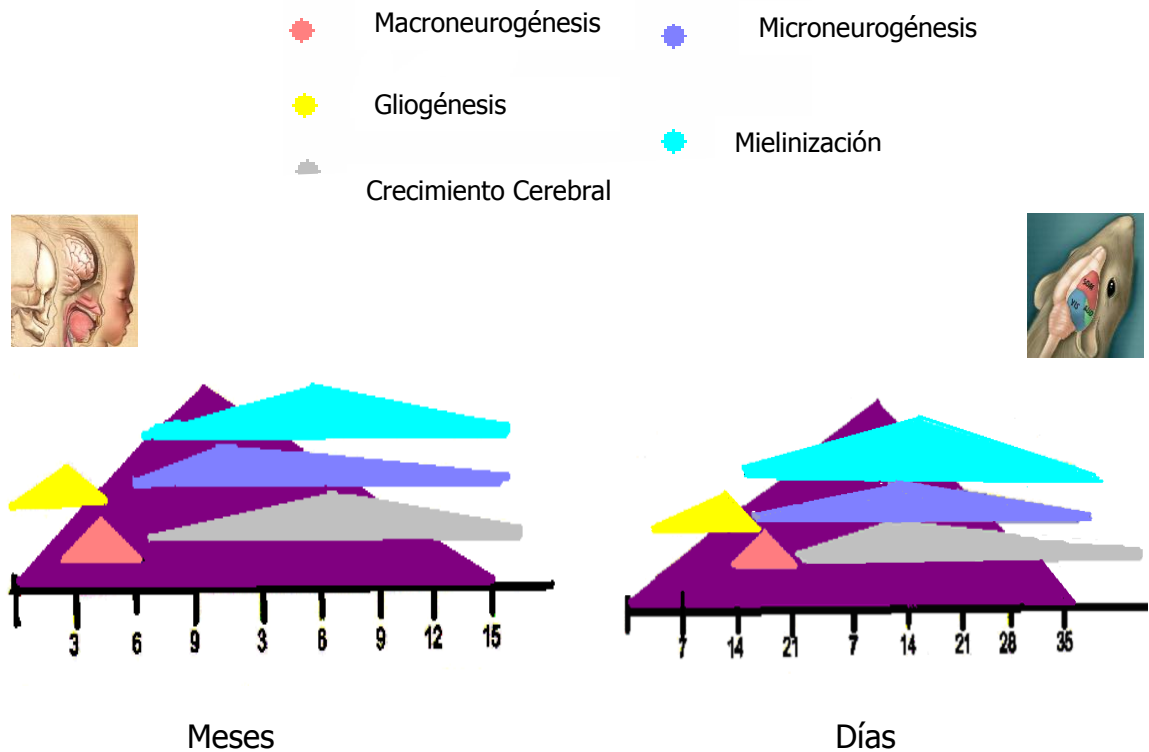


Figura 7. Procesos celulares del sistema nervioso durante el desarrollo. Analogía entre el hombre y la rata que marcan los periodos críticos (modificado de Alemán-Alemán, 2005).

Una vez que se han descrito los procesos que dan lugar a la formación del sistema nervioso durante el desarrollo, es importante hacer una descripción de la anatomía y función relevante de las estructuras que son objeto del presente estudio.



II.2. Estructuras cerebrales

II. 2.1. Cerebelo

Se localiza debajo de los lóbulos occipitales del cerebro humano, consta de dos hemisferios cerebelosos y una parte intermedia denominada vermis. La sustancia gris está formada por las células de Purkinje y las granulares, y en el interior la sustancia blanca (figura 8). En los roedores se localiza en el cerebro posterior, su función es la coordinación del movimiento voluntario, balance, equilibrio y tono muscular, recibe información procedente de los músculos y articulaciones, así como impulsos procedentes del oído interno que le mantienen informado acerca de la posición y movimientos de la cabeza. Debido a su influencia en el desempeño locomotor la lesión o daño del cerebelo repercute en movimientos lentos y no coordinados, músculos débiles (hipotonía), movimientos anormales del ojo (Kandel, 1998).

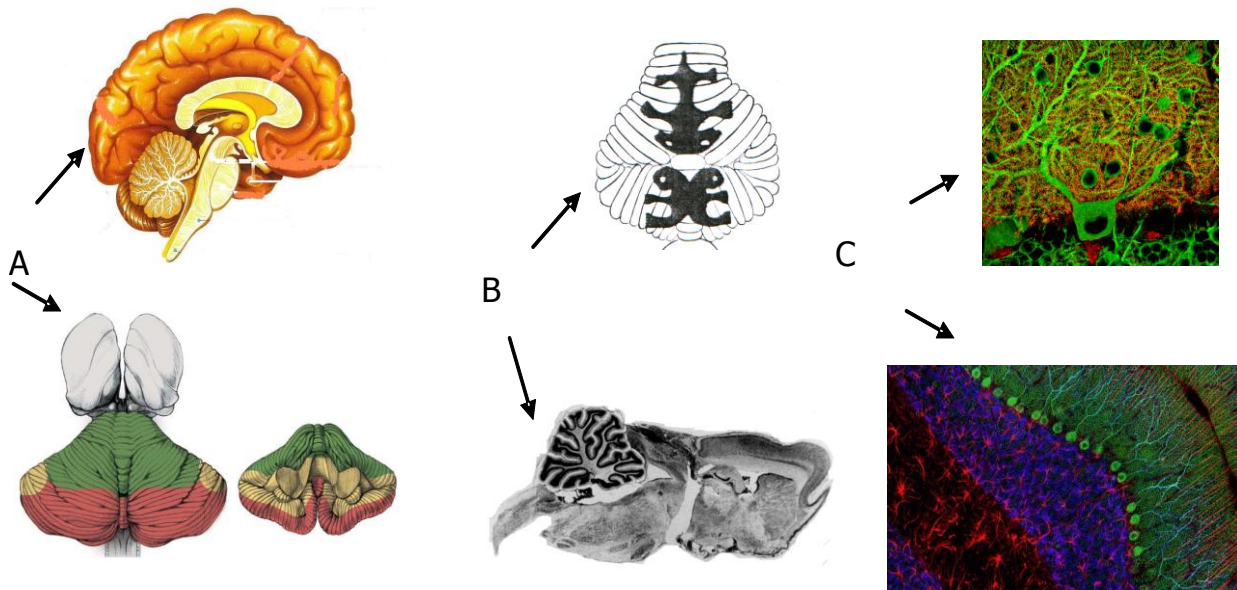


Figura 8. Cerebelo. Localización en el humano (A), y en B, del murínido (rata) mostrando la topografía de las partes del cuerpo que modula. Imágenes de inmunofluorescencia (C), para la observación confocal de la histología del cerebelo: neuronas de Purkinje en verde, la capa granular en púrpura y el plexo de axones en rojo⁶.

⁶www.monografias.com/.../neuronas/Image825.jpg



II.2.2. Corteza prefrontal

La corteza cerebral, o sustancia gris del cerebro, tiene un espesor entre 2 y 3 mm, se acomoda en pliegues o circunvoluciones y se delimita en regiones que a su vez tienen funciones específicas. Se divide en cuatro regiones anatómicas: frontal, parietal, temporal y occipital. La corteza frontal se divide a su vez en prefrontal y frontal. En los roedores y en el cerebro humano se localiza en la parte anterior y se vincula a los procesos de la personalidad (Puelles et al; 2008).



Figura 9. Corteza prefrontal. En la figura de la izquierda se señala la ubicación en el cerebro humano y en la derecha, la extensión (en púrpura) en el cerebro de la rata (modificado Haines, 2003)⁷.

II. 2.3. Cuerpo estriado

El cuerpo estriado está formado por los núcleos caudado, putamen, globo pálido y el acumbens. Todas estas estructuras son dobles, un conjunto a cada lado del septum central. El núcleo caudado comienza justo debajo del lóbulo frontal y se curva hacia el lóbulo occipital, envía sus mensajes al lóbulo frontal, parece ser el responsable de modular la atención y alerta.

Por otra parte, un núcleo caudado hipoactivo puede estar implicado en varios desordenes, como el déficit de atención, depresión, ciertos aspectos de esquizofrenia y apatía. El putamen, se localiza justo debajo y detrás del núcleo caudado. El globo pálido está localizado dentro del putamen, con una parte exterior y otra interior. Recibe información desde el núcleo caudado y el putamen, y envía información a la sustancia negra. El núcleo acumbens se encuentra justo

⁷www.monografias.com/.../neuronas/Image825.jpg



debajo del núcleo anterior. Recibe señales del córtex prefrontal (por vía del área tegmental ventral) y envía otras señales del globo pálido. La función exacta se desconoce, pero se cree que implica circuitos de recompensa. La enfermedad de Parkinson también se debe a la muerte de neuronas dopaminérgicas implicadas en el mecanismo funcional del estriado y ganglios basales (kandel et al 1998).

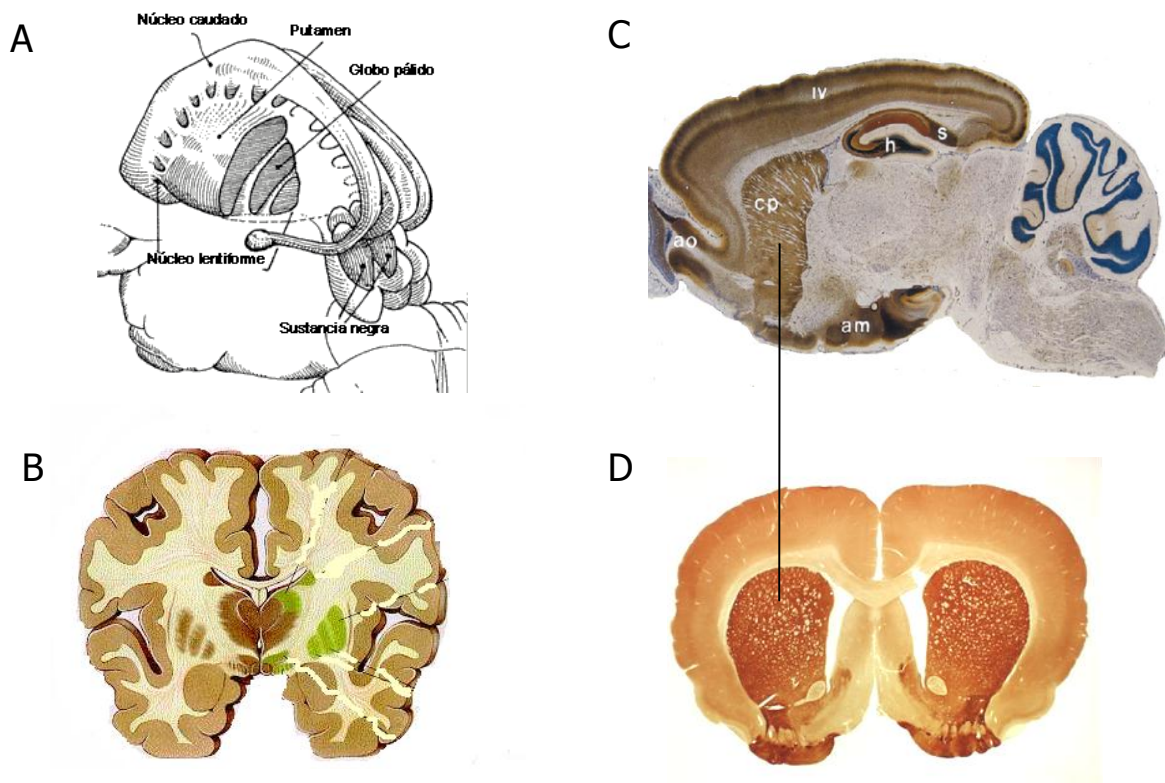


Figura 10. Cuerpo estriado o ganglios basales (caudado, putamen y globo pálido) formado por los núcleos caudado y putamen en A. Corte transversal en donde se indica la extensión de estos núcleos (en verde) en un cerebro humano⁸. En C, corte sagital del cerebro de la rata en donde se indican el cuerpo estriado (cp), el bulbo olfatorio (ao), la amígdala (am), el hipocampo (h) el subículum (s) y la capa IV cortical y en D, corte transversal del cp en el cerebro de la rata⁹.

⁸www.bibliotecadigital.ilce.edu.mx/.../img/130_34.gif

⁹www.images.the-scientist.com/.../striatum.jpg



II.2.4. Hipocampo

La palabra hipocampo proviene del griego hippos que significa caballo, y Kampos, que significa monstruo de mar. La estructura cerebral del hipocampo se caracteriza por tener esa forma. Forma parte del lóbulo temporal. Se caracteriza por su forma interna alargada, de varias regiones: giro dentado, el propio hipocampo dividido en CA1, CA2, CA3 y CA4. El hipocampo, desempeña un papel importante en el aprendizaje y la consolidación de la memoria, así como la navegación espacial que es una conducta compleja caracterizada por movimientos coordinados dentro de un contexto espacial (Bear, 1998; Delgado, 1998; Haines, 2003).

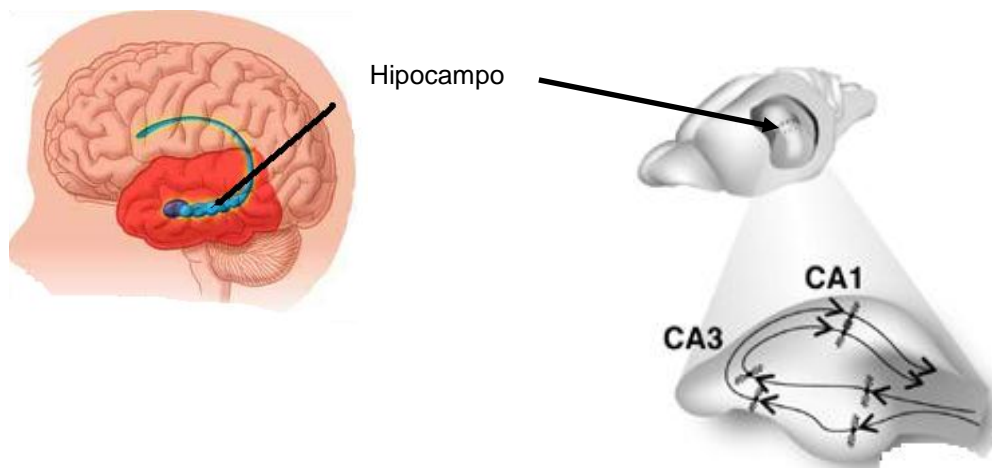


Figura 11. Localización del hipocampo. En el humano y en la rata formando por los campos 1 (CA1) y 3 (CA3), o circuito intrahipocampal¹⁰.

II. 3. Importancia de la nutrición en la función cerebral

Desde la década del 40 del siglo pasado; muchos resultados han mostrado que la estructura y función del cerebro están influenciadas por la dieta (Cintra et al., 1997b; Ahmed et al., 2000; Fukuda et al., 2002; Bonatto et al., 2005; Caupé et al., 2009).

¹⁰www.images.the-scientist.com/.



Los constituyentes de la dieta (macro y micronutrientes), tienen influencia en la estructura y función del cerebro. Se sabe que el cerebro adulto consume el 50 % de los carbohidratos de la dieta y el 80% de ellos con fines energéticos. La naturaleza de la composición aminoacídica de las proteínas de la dieta contribuye a un buen funcionamiento cerebral. Muchos aminoácidos indispensables presentes en las proteínas dietéticas ayudan a elaborar neuromoduladores y neurotransmisores (i.e., glutamato, gama-aminobutírico) (Bourre et al., 2004; 2006).

Los lípidos (en particular los ácidos grasos ω -3) son constituyentes de la estructura lipídica de las membranas de las neuronas, lo cual influye en sus propiedades físico-químicas y en la actividad de moléculas funcionales (receptores, enzimas y transportadores) unidas a ellas.

La utilización de la glucosa por el tejido nervioso, requiere de vitamina B₁, la cual modula la función cognitiva. El ácido fólico, como cofactor del metabolismo de los nutrientes con carbono, ayuda a preservar la memoria durante la edad junto con la vitamina B₁₂ (que interviene en la formación de las vainas de mielina de los nervios) y la B₆ está directamente involucrada en la síntesis de neurotransmisores. Las terminaciones nerviosas contienen las más altas concentraciones de vitamina C del cuerpo humano (después de las glándulas suprarrenales) y la vitamina K ha sido, también involucrada en la bioquímica del tejido nervioso. Entre los componentes de la vitamina E, sólo el α -tocoferol se toma de manera activa por el cerebro para la protección directa de la membrana nerviosa. De los minerales, el hierro es necesario para asegurar la oxigenación y producir energía en las células parenquimatosas cerebrales y para la síntesis de neurotransmisores y mielina. El yodo asegura el metabolismo energético de las células cerebrales y el manganeso, junto con el cobre y el zinc participan como cofactores de metaloenzimas que protegen contra la acción de radicales libres y especies reactivas de oxígeno. Así, la composición de los nutrientes y el patrón de las comidas pueden ejercer efectos inmediatos o a largo plazo, benéficos o adversos sobre la función del cerebro (Domínguez, 2009).



El cerebro, después del tejido adiposo, es el órgano más rico en lípidos y ácidos grasos poliinsaturados, por lo que los estudios se enfocan a las reacciones mediadas por especies de oxígeno reactivas, particularmente de lípidos neuronales, extensivas en aquellas áreas del cerebro directamente involucradas en el proceso de la memoria, de ahí que para conocer su papel con respecto al deterioro funcional cerebral, los lípidos de la dieta han sido objeto de diferentes estudios relacionados con el estrés oxidativo. Datos recientes sugieren que la lipoperoxidación es un evento temprano en el deterioro cognitivo ligero. De ahí que se plantea que las sustancias antioxidantes como las vitaminas E, C, carotenos, polifenoles pueden reducir el daño neuronal y la inhibición producida por las reacciones oxidativas por inhibición de generación de especies reactivas de oxígeno, peroxidación lipídica, apoptosis, oxidación de proteínas; daño a las membranas celulares ó DNA (Domínguez, 2009).

II.3. I. Malnutrición

Se le define como la carencia, excesos o desequilibrios en la ingesta de energía, proteínas y otros nutrimentos. Mientras que la desnutrición es el resultado de una ingesta de alimentos insuficiente para satisfacer las necesidades de energía alimentaría, ya sea por una mala absorción y/o el uso biológico deficiente de los nutrimentos consumidos. Habitualmente genera pérdida de peso y la sobre-alimentación es un estado crónico en el que la ingesta de alimentos es superior a las necesidades de energía alimentaria, creando sobrepeso u obesidad (De la Mata, 2008).

II.4. Desnutrición

Es un estado patológico que se presenta, cuando una dieta no es capaz de satisfacer las necesidades de proteínas, energía o ambas en un organismo. Las manifestaciones clínicas, están condicionadas por la deficiencia del nutrimento, la duración de las deficiencias, edad del paciente, las causas de la deficiencia y



asociación con otras enfermedades nutricionales o infecciosas (En Casanueva; 2001, Toussaint Martínez de Castro).

II.4.1. Etiología

Son diversos los factores que influyen para desencadenar desnutrición, éstos incluyen a los factores biológicos, económicos y sociales. Los factores biológicos más comunes son las enfermedades gastrointestinales y respiratorias, porque se acompañan generalmente de anorexia, vómitos así como disminución de la absorción intestinal de los nutrimentos. Otras enfermedades infecciosas, virales, bacterianas, protozoarias y parasitarias, también pueden influir en la aparición de la desnutrición. También anomalías metabólicas y estrés, contribuyen a una absorción defectuosa o insuficiente de los nutrimentos (Mahan et al, 2000).

La desnutrición infantil puede ser consecuencia de una malnutrición materna, antes o durante el embarazo. Entre los factores económicos ubicamos a la pobreza ya que complica la disponibilidad y acceso a los alimentos. Los factores sociales como las malas condiciones sanitarias, hacinamiento, mal cuidado de los niños, ignorancia, y las prácticas alimentarias son determinantes en el aprovechamiento de los alimentos (Mahan et al., 2000; Casanueva et al., 2008).

Dado que el tipo de malnutrición que nos interesa estudiar es por deficiencia de un macro nutrimento como son las proteínas describiremos los tipos de desnutrición.

II.4.2. Tipos de desnutrición

La desnutrición ha sido clasificada de acuerdo a la etiología, en primaria y secundaria. La inadecuada ingesta de alimentos en cantidad y calidad da origen a la desnutrición primaria y la secundaria es resultado de otras enfermedades (Mahan et al., 2000; Serra et al., 2006).



II.4.2.1. Desnutrición proteínica (Kwashiorkor)

Es un síndrome causado por carencia de proteínas de alto valor biológico y una ingesta calórica insuficiente. Este tipo de desnutrición es frecuente en niños de 1 a 3 años de edad, en donde el destete es un antecedente común entre los niños que la padecen. Factores como disfunción en la absorción, diarrea, proteinuria, infecciones, hemorragias, hepatopatías crónicas pueden favorecer su aparición. Se caracteriza por un edema blando, e indoloro, usualmente en pies y piernas, que en casos severos se extiende al perineo, extremidades superiores y cara. La grasa subcutánea se conserva en algunas partes del cuerpo, la pérdida de peso corregida por el edema no es de la misma intensidad que en el marasmo. La talla puede ser normal o con retraso del crecimiento. Generalmente hay hepatomegalia debida a infiltración grasa del hígado. Puede haber palidez, con extremidades frías y cianosis. En algunos casos existe hipotermia e hipoglucemia (En Casanueva 2001 Toussaint Martínez de Castro).

II.4.2.2. Marasmo

Está asociado con una restricción o escasez severa de alimentos, y una ingesta calórica insuficiente. Las prácticas alimentarias, anomalías metabólicas malformaciones congénitas e infecciones provocan su desarrollo. Los niños prematuros o con bajo peso al nacer son vulnerables de desarrollar desnutrición de tipo marasmática. Los síntomas son frecuentes en niños menores de 18 meses, quienes están por debajo del peso para la talla, presentan emaciación muscular generalizada y la ausencia de grasa subcutánea es característica de este tipo de desnutrición. Los pacientes pueden presentar anorexia, así como vómitos, estreñimiento o diarrea. La presión sanguínea y la temperatura corporal están disminuidas, estos eventos están asociados a la hipoglucemia que se presenta (En Casanueva 2001 Toussaint Martínez de Castro).



II.5. Efectos de la desnutrición y de la malnutrición en el cerebro de la rata durante el desarrollo

La desnutrición prenatal está relacionada con factores como disturbios genéticos del embrión, defectos en el desarrollo de la placenta o desnutrición de la madre. Todos ellos redundarán en un riego sanguíneo deficiente al feto, con la consiguiente alteración del transporte de nutrimentos. Este tipo de malnutrición puede ocasionar alteraciones crónicas severas en estructuras del desarrollo cerebral temprano.

En animales experimentales también se ha demostrado de manera clara y repetida que la malnutrición influye en el desarrollo normal del individuo afectando la talla y los pesos corporal y cerebral. Estos efectos son dependientes del momento en que la malnutrición se instale (Cintra et al., 1997a; Bennis-Talebet et al., 1999). La malnutrición in utero trae como consecuencia la reducción de peso del cerebro de ratas neonatas, atraso en la mielinización, alteraciones en las neuronas corticales, así como trastornos de integración funcional a lo largo de la vida hasta la senectud (Martínez et al., 2009). Los efectos más evidentes en el SNC por malnutrición corresponden a las alteraciones en la migración celular ocasionando laminación indefinida, decremento en el grosor y en la densidad de diferentes áreas del cerebro, disminución en la proliferación de células gliales y en la formación de capas de mielina, así como reducción en la amplitud de las proyecciones dendríticas y en la densidad de las espinas dendríticas (Alemán-Alemán, 2005).

Se alteran los patrones de conducta por la malnutrición, en donde se retrasa la aparición de reflejos y de las primeras conductas propias del desarrollo. Se han diseñado diversos modelos de malnutrición experimental en donde solo se reduce la cantidad de caseína (proteína de gran importancia en la dieta del neonato por contener 20 de los 21 aminoácidos esenciales y encontrarse en la leche materna). Esta dieta hipoproteínica, contiene solo el 6% de caseína, pero es isocalórica (Morgane, et al., 1978; 1993; 2002). Así, se estudian los efectos diferenciales durante las diversas etapas del desarrollo del SNC, instalados durante periodos



críticos, tanto pre como postnatales y se relacionan los efectos que produce sobre todo en los procesos de maduración del SNC y en el establecimiento de funciones cognitivas como el aprendizaje y la memoria (Martínez et al., 2009).

II.6. Efecto de la malnutrición en el hipocampo

Los estudios en el hipocampo, de animales malnutridos desde el periodo prenatal y el posnatal en distintas edades jóvenes y adultos, han mostrado disminución significativa en su volumen (Cintra et al., 1997a; Granados-Rojas, et al., 2002; 2004), en la arborización dendrítica, en el número de espinas (Andrade y Paula-Barbosa, 1996; Díaz-Cintra, et al., 1991, 1994; García-Ruiz, et al., 1993) y en la sinaptogénesis de las fibras musgosas del CA3, (García-Ruiz et al; 1993) encontraron estos mismos efectos en las células piramidales del CA3, los cuales persistieron aún después de una rehabilitación nutrimental al momento del nacimiento.

Las investigaciones también han mostrado que la adquisición de una tarea de tipo espacial se altera por la malnutrición hipoproteínica prenatal, la que se revierte con una rehabilitación dietética al momento del nacimiento (Bedi, 1987; 1992; Lukoyanov et al., 1999; Lukoyanov y Andrade, 2000). La importancia del estudio de las alteraciones en el hipocampo se le relaciona con las deficiencias en los procesos de aprendizaje y memoria, ya que es una estructura que forma del sistema límbico, el cual, a su vez regula funciones somáticas, endocrinas, sensoriales, viscerales y funge como coordinador de la respuesta del individuo ante su ambiente. Diversos estudios conductuales han mostrado que las ratas malnutridas presentan deficiencias en la habilidad para aprender y en la memoria de tipo espacial (Castro et al., 1989; Ahmed et al., 2000; Fukuda et al., 2002).

Otros estudios sugieren que durante la malnutrición se alteran mecanismos de acción GABAérgica en las interneuronas hipocampales (Andrade y Paula-Barbosa, 1996; Díaz-Cintra, 2007), cambios que explican aunque de manera parcial, la falta de modulación en la excitabilidad de las neuronas hipocampales asociados a la alteración emocional y motivacional que presentan los animales



malnutridos. Adicionalmente se han reportado efectos como la modificación en la proliferación celular y del factor neurotrófico cerebral durante el periodo crítico del desarrollo del hipocampo y del hipotálamo (Coupé et al., 2009) también niveles bajos de la proteína total cerebral y del factor de crecimiento neuronal, asociados a las alteraciones en el aprendizaje, la memoria.

II.7. Plomo

El plomo (Pb) es un elemento comúnmente encontrado en el ambiente, de vida media de 28 a 36 días, altamente tóxico, es abundante en la superficie terrestre (12 ppm), su distribución geográfica es amplia y homogénea, por lo que es biodisponible. En la antigüedad era usado como endulzante en la fabricación de vinos. En la época de los romanos fue objeto de mitos ya que el saturnismo representaba una enfermedad en donde se producen alucinaciones y alteraciones conductuales como agresividad y fue llamada así en honor al dios saturno quien era considerado demente (Doadrio, 2006).

II.7.1. Usos del plomo

Las fuentes de contaminación pueden ser naturales o antropogénicas (estacionarias, minería, el refinado o fundición de metales y otros procesos industriales; móviles, uso de gasolina con Pb, químicas, por contaminación de fertilizantes, plaguicidas y desechos orgánicos) o bien en pinturas, juguetes y el agua, por ello es quizás el metal de mayor interés toxicológico, por la frecuencia con la que se emplea en la fabricación de contenedores de alimentos, aditivos de vinos, pinturas y barnices y en la fabricación del vidrio, baterías y antidetonante de las gasolinas, pero su presencia en la red doméstica del agua lo hace el metal de alto riesgo (Doadrio, 2006).



II.7.2. Vías de exposición y absorción

El Pb se absorbe por varias vías: gastrointestinal, respiratoria y dérmica, siendo la más eficaz la vía respiratoria. La absorción diaria es de 31.5 μg , de éstos se eliminan 24 μg (16 por riñón y 8 por las heces), y el resto se distribuye en tejidos duros. Por su alta competencia por los sitios de calcio, el Pb se almacena en los huesos y dientes, pero su toxicidad bioquímica se manifiesta en el ciclo de la hemoglobina alterando la síntesis del grupo hemo y de la eritropoyesis, por medio de la inhibición de la enzima deshidratasa y hemosintetasa produciendo anemia (Doadrio, 2006).

II.7.3. Efectos del plomo en el organismo

Los efectos que produce el plomo son patológicos y aparecen de acuerdo al periodo de exposición, la vulnerabilidad de cada organismo y la cantidad a la que es expuesto. En los niños una intoxicación por Pb con 10 $\mu\text{g}/\text{dL}$ en sangre y hasta 70-80 $\mu\text{g}/\text{dL}$ puede provocar, dificultad en el lenguaje, convulsiones, hiperirritabilidad, disminución en el coeficiente intelectual, deficiencia de atención y anemia. En los adultos una concentración de 40-120 $\mu\text{g}/\text{dL}$ son suficientes para provocar daño neurológico, también se pueden presentar defectos en el riñón, en las mujeres embarazadas puede provocar abortos espontáneos y disminución en el coeficiente intelectual además de otras alteraciones cognitivas como alucinaciones y neuropatías. Tanto en niños como en adultos se ha propuesto al plomo como generador de sustancias prooxidantes y desencadenantes de estrés oxidativo. A nivel experimental, en la rata intoxicada por plomo muestra efectos en la conducta sobre todo cuando se somete a pruebas de aprendizaje y de tipo exploratorio. En las ratas gestantes e intoxicadas los fetos pueden reabsorberse, el número de la camada se reduce y provoca disminución de los pesos corporal y cerebral (Antonio et al., 1999).



II.7.4. Efectos del plomo en el sistema nervioso central

Los efectos estructurales que ocasiona el plomo están íntimamente relacionados con la cantidad y el periodo de exposición al metal. Se ha observado que existe una mayor captación del plomo por el cerebro en la etapa prenatal, ocasionando alteración en los mecanismos de proliferación y diferenciación celular. Se ha demostrado que el plomo provoca alteración en el endotelio de la barrera hematoencefálica, así como lesión primaria en la glía. Estos efectos se proponen como la resultante de una exposición al plomo a bajas concentraciones. Los cambios morfológicos que se han observado en el hipocampo de rata tras haber sido intoxicadas con microdosis (20 µg/dL) de Pb son el aumento del tamaño y en la densidad de las fibras musgosas, sin embargo el efecto contrario ocurre cuando la dosis se incrementa a 250 µg/dL (Fjerdingstad, 1974). Las estructuras cerebrales más afectadas por la exposición al plomo corresponden al cerebelo, la corteza, el estriado y el hipocampo. Las alteraciones de cada región dependen de los mecanismos celulares de cada estructura. En diversos estudios se describen efectos en los mecanismos de homeostasis de calcio (Goldstain, 1993). La neurotoxicidad asociada a la exposición del Pb puede resultar en una serie de alteraciones en el metabolismo del SN. En el 2001, un reporte de Huerta-Romero y Ríos et al., en donde intoxicaron ratas durante la gestación hasta los 45 días postnatales (P45), con 320 o 160 ppm de acetato de Pb, encontraron un incremento en la lipoperoxidación del tálamo, el estriado y el hipocampo, así como reducción del número total de neuronas (Villeda-Hernández et al., 2006). En otro estudio de Bokara et al., (2008), intoxicaron con 0,5% de acetato de Pb en el agua, a ratas preñadas desde el día E6 hasta el P21. Encontraron que los niveles de lipoperoxidación se elevaron en el hipocampo y en el cerebelo, y los niveles normales se recuperaron en el día P40. Estudios en combinación de Pb (300 mg/l) más cadmio (10 mg/l), produce alteraciones en el metabolismo del sistema monoaminérgico de ratas neonatas (Antonio et al., 1999).



II.8. Neurotoxicidad

La neurotoxicidad, se refiere a aquellas alteraciones funcionales, estructurales y bioquímicas (calcio intracelular, e interferencia en los canales dependientes de sodio) producidas en el SN que conllevan a la manifestación de diferentes clases de efectos adversos como consecuencia de una exposición a un agente tóxico (Rajanna et al., 1996; Gu et al., 2005). La exposición a sustancias neurotóxicas pueden producir tres tipos de alteraciones: sensoriales, motoras y cognitivas. Dichas alteraciones son causadas por alguno de los siguientes mecanismos de acción neurotóxicos como son las neuropatías, axonopatías y mielinopatías de acuerdo al daño en el sitio componente de la neurona. Estas determinan la interacción directa entre el SN y el xenobiótico (sustancias extrañas al organismo). Entre los xenobióticos figuran los fármacos, las sustancias químicas industriales, los venenos presentes en la naturaleza y los contaminantes del medio ambiente (Bressler et al., 1991).

II.8.1. Neuropatías

En este tipo de acción neurotóxica, los agentes actúan directamente sobre las neuronas, provocando su degeneración e incluso su muerte. Se caracteriza por la aparición de encefalopatías, el plomo es un elemento capaz de provocarlas (Bressler et al., 1991; Finklestein et al., 1998).

II.8.2. Axonopatías

El agente neurotóxico actúa directamente sobre la degeneración axonal y provoca una desnaturalización de la mielina. La consecuencia principal de este hecho es la dificultad en la transmisión del impulso nervioso.



II.8.3. Mielinopatías

La mielina se desnaturaliza, produciéndose la separación con el axón. El agente neurotóxico actúa directamente en la mielina. Con este hecho se altera la transmisión del impulso nervioso.

II.8.4. Interferencia del plomo en otros mecanismos homeostáticos celulares y con la transmisión sináptica

Diversos sistemas de neurotransmisores como los dopaminérgicos y glutamatérgicos desempeñan un papel importante en el aprendizaje y los procesos de memoria (Finkelstein et al., 1974). Estos sistemas están afectados por la exposición crónica a plomo (Lasley et al., 1992). Los mecanismos moleculares y celulares afectados por la interferencia del plomo impactarán en la respuesta emocional, la memoria, el aprendizaje y actividades motoras (Rajanna et al., 1996). La síntesis, el almacenamiento, la liberación de neurotransmisores, el funcionamiento de receptores, el daño a los astrocitos y a la oligodendroglia son algunos de las consecuencias por la interacción del Pb en el SN (Toscano et al., 2005)

II.9. Estrés Oxidativo

En los últimos años se ha propuesto al estrés oxidativo como el causante o agravante de diversas enfermedades neurológicas, generando controversia entre los investigadores pues aun no se sabe si el estrés oxidativo es una causa o un efecto de las enfermedades entre las que podemos mencionar Alzheimer, Parkinson entre otras como el cáncer, isquemia, diabetes ya que este mecanismo implica el daño tanto en la estructura como en la función de proteínas, lípidos, y factores de transcripción (Brownlee y Cerami, 1981; Baker et al 1997; Valko 2007; Butterfield, 2002; Sayre et al., 2001). La alteración del equilibrio entre sustancias prooxidantes (incluyen tanto a radicales libres como a especies reactivas), las cuales se generan como resultado del metabolismo celular y sistemas antioxidantes se conoce como estrés oxidativo, el cual puede tener distintos



niveles, leve y grave. En el estrés oxidativo leve las defensas antioxidantes son suficientes para reestablecer dicho equilibrio, pero en lo que se denomina estrés oxidativo grave las alteraciones en el metabolismo celular puede traer como consecuencia el aumento de la concentración de calcio intracelular, daño en los transportadores membranales de iones, así como el rompimiento de DNA (Dorado et al., 2003).

II.9.1. Radicales Libres (RL)

Son moléculas cuya característica principal es su alta reactividad pues poseen un electrón desapareado. Esto provoca la transformación de otras moléculas y la reacción en cadena de moléculas reactivas que pueden generar daño desde las células hasta los tejidos (Dorado et al., 2003; Valko et al., 2007).

II.9.2. Especies Reactivas (ER)

No todas las especies reactivas (ER) son radicales libres, pero se forman como productos del metabolismo de los radicales libres, son moléculas oxidantes que generan daño a la célula. Las ER incluyen a las Especies reactivas de oxígeno (ERO), de hierro (ERH), de cobre (ERC) y nitrógeno (ERN). La fuente endógena más importante de ER es el sistema mitocondrial de transporte de electrones (Valko et al., 2007).

II.9.3. Antioxidante

Se llama antioxidante (AO) a cualquier sustancia, que presente en bajas concentraciones retrasa o inhibe la oxidación. Los AO pueden actuar deteniendo la propagación y el aumento de radicales libres, transformando los peróxidos en productos menos reactivos, disminuyendo la concentración de oxidantes, evitando la iniciación de reacción en cadena de sustancias oxidantes, uniéndose a iones metálicos para evitar la formación de especies reactivas (Cadenas et al., 1997).



II.9.4. Sistemas de defensa antioxidante

Todos los radicales libres son electrófilos y generan un radical libre menos reactivo. Los sistemas antioxidantes son de dos tipos: enzimáticos y no enzimáticos. Dentro de los sistemas enzimáticos encontramos enzimas derivadas del sistema citocromo oxidasa, las superóxido dismutasas (SOD) de cobre, zinc o manganeso, las catalasas y peroxidasas (Valko et al., 2007).

II.9.5. Sistemas enzimáticos, con función antioxidante:

- Citocromo oxidasa (CO) encargada de evitar la reducción univalente de oxígeno.
- Súper óxido dismutasa (SOD) está especializada en captar el radical anión superóxido mediante una dismutación y así convertirlo en peróxido de hidrógeno.
- Catalasas y peroxidasas, glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión reductasa (GR) neutralizan al H_2O_2 y lo convierten en agua.

II.9. 6. Sistemas no enzimáticos, con función antioxidante

- Vitamina E o a tocoferol neutraliza al radical OH por su ubicación en las membranas donde su protección es particularmente importante.
- Vitamina C, por su carácter reductor, reacciona rápidamente en el O_2 y con el OH, también es captor del oxígeno singulete y del ion hipoclorito.
- Glutatión (GSH), además de captar el H_2O_2 peroxido de hidrogeno como substrato de la GPx, también capta al OH.

El estrés oxidativo puede tener repercusiones en distintos componentes de la célula, las moléculas comúnmente afectadas por estrés oxidativo son las proteínas, carbohidratos y lípidos (Wang et al., 1996; Halliwell y Gutteridge, 1997; Sayre et al., 2001; Stadtman et al., 2004). El daño a los ácidos grasos poliinsaturados interfiere en la selectividad y permeabilidad de la membrana, lo que trae como consecuencia disfunción de la célula (figura 12).



II.9.7. Lipoperoxidación

Es un mecanismo de daño celular tras la descomposición de los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas biológicas. Se considera un indicador de estrés oxidativo. Los productos finales de la reacción en cadena a partir de sustancias prooxidantes son: aldehídos e isoprostanos. El mecanismo de lipoperoxidación consta de tres fases: iniciación, propagación y terminación.

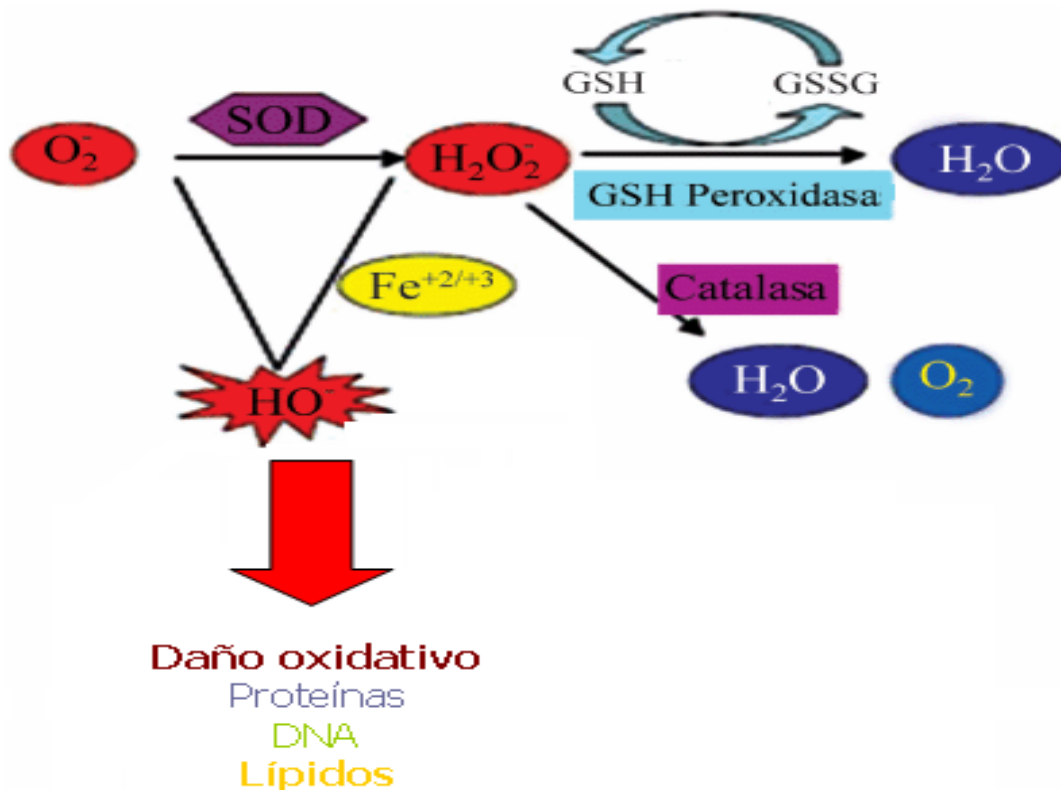


Figura 12. Estrés Oxidativo. Pérdida del balance entre los antioxidantes (vitaminas, enzimas y oligoelementos) y los radicales libres (hidroxilo, peroxilo e hidroperoxilo), como elementos que participan en el estrés oxidativo¹¹.

¹¹www.3.bp.blogspot.com/_FTmjjlOEN30/SvqX-_a3YqI/AA

II.9.8. Iniciación, Propagación y Terminación

Durante esta etapa una molécula con capacidad reactiva extrae un átomo de hidrógeno de un radical metileno de los ácidos grasos poliinsaturados en donde la molécula reactiva capta el hidrogeno y producto de esta reacción se forma un radical orgánico (Dorado et al., 2003; Valko et al., 2007). Una vez que se forma el radical lipídico sufre reacciones de adición a combinación con el oxígeno y forman radicales peroxilos y con ello una serie de reacciones en cadena con moléculas lipídicas vecinas que a su vez formarán hidroperóxidos. La terminación ocurre cuando los sistemas antioxidantes intervienen y frenan las reacciones en cadena.

II. 10. Membrana celular

Ha sido definida como una película delgada y transparente propia de las células, cuyo espesor es de 5 nm. Esta compuesta por lípidos organizados en dos láminas (bicapa lipídica) además de proteínas que se pueden encontrar adheridas a la membrana y formando así una especie de mosaico (Alberts et al., 2006). Los lípidos que la componen y en particular los fosfolípidos, poseen una cabeza hidrófila y una o dos colas hidrocarbonadas e hidrófobas (antipáticas) características particulares que permiten la formación de la bicapa lipídica. La membrana celular participa en el intercambio de nutrimentos y desechos mediante canales y bombas selectivos que permiten mantener el medio intracelular, regulando el paso de agua, moléculas y elementos.



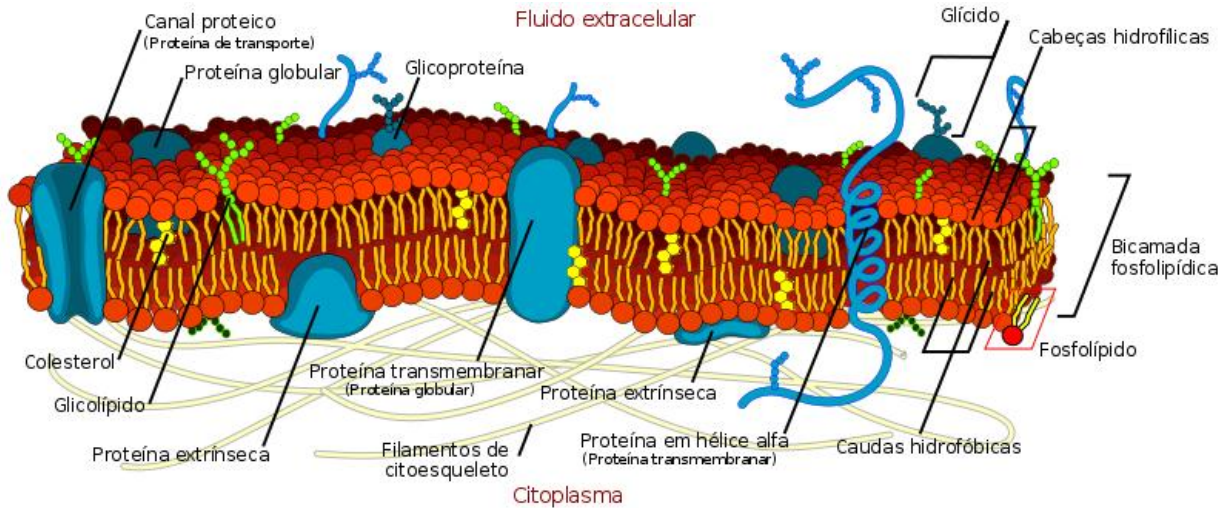


Figura 13. Membrana celular de las células eucariotas. Se representan los elementos que conforman la membrana bilipídica (fosfolípidos) y compuesta por proteínas (globulares transmembranales) además de filamentos que permiten que la membrana sea semipermeable y selectiva.¹²

II.11. Lipoperoxidación en las membranas mitocondriales

La cadena de transporte de electrones (CTE) de la mitocondria es el principal sitio de generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) en las células aerobias eucariotes. Diversos factores tales como la presencia de inhibidores del transporte de electrones, aumentos en la concentración mitocondrial de calcio y de metales de transición, defectos genéticos de las proteínas que constituyen la CTE, entre otros, pueden generar una condición de estrés oxidativo en donde la producción de ERO sobrepasa la capacidad antioxidante de la célula (Halliwell et al., 1992). Durante el estrés oxidativo, uno de los principales blancos de daño oxidativo por ERO son las colas hidrofóbicas insaturadas que componen a los lípidos de las membranas mitocondriales. Por ejemplo, en sinaptosomas de rata (Cardoso et al., 1999), el estrés oxidativo inducido por la generación de radical hidroxilo favorece la peroxidación de lípidos de membrana produciéndose una disminución en el contenido de ubiquinona, lo que limita tanto el flujo de electrones y sus actividades catalíticas (Paradies et al., 2002; Petrosillo et al., 2003).

¹² www.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Cell_membrane_detailed_diagram_pt.svg



Por lo tanto, la peroxidación de las membranas mitocondriales afecta a los componentes proteicos de la CTE que se encuentran embebidos en ellas, lo cual podría inhibir algunos procesos esenciales que dependen del funcionamiento de la CTE tales como la síntesis de ATP, el transporte de metabolitos e iones o el bombeo de protones (Ferguson et al., 2002), provocando como resultado final el colapso de la célula. La susceptibilidad de las membranas biológicas a la peroxidación depende fuertemente del grado de insaturación de los lípidos que las constituyen, siendo mayor su susceptibilidad conforme aumenta el número de dobles enlaces (Pamplona et al., 2000). De acuerdo a lo anterior, la vulnerabilidad de la CTE a la inhibición por el ataque de ERO. Asimismo, la preservación de la funcionalidad mitocondrial durante el estrés oxidativo se podría traducir en una mayor capacidad de la célula para sobrevivir a los efectos nocivos del estrés oxidativo.

II.12. Malnutrición y plomo como generadores de estrés oxidativo

Existe evidencia del estrés oxidativo inducido por malnutrición, o por desnutrición. La desnutrición altera la producción de especies reactivas de oxígeno, sin embargo no hay un efecto significativo en el incremento de lipoperoxidación del cerebro de rata según el estudio realizado por Partadiredja en el 2008.

La neurotoxicidad asociada a la exposición del Pb propone que el estrés oxidativo, es el causante del daño a la célula y la disfunción de la misma. En un estudio de Villeda-Hernández et al., 2006, en donde se intoxicaron ratas durante la gestación hasta los 45 días postnatales (P45), con 320 o 160 ppm de acetato de Pb, encontraron lipoperoxidación aumentada del estriado y el hipocampo y una reducción del número total de neuronas (Villeda-Hernández et al., 2006). En otro estudio de Bokara et al., 2008, intoxicaron con 0,5% de acetato de Pb en el agua, a ratas preñadas desde el día E6 hasta el P21. Encontraron que los niveles de peroxidación se elevaron en el hipocampo y en el cerebelo, recuperándose los niveles normales en el día P40. Estudios en combinación de Pb (300 mg/l) mas cadmio (10 mg/l), produce alteraciones en el metabolismo del sistema



monoaminérgico de ratas neonatas (Antonio et al., 1999). El plomo no es metabolizado por el organismo, pero interviene en funciones celulares como ya se describió anteriormente en la regulación de calcio y en la inhibición de neurotransmisores.

También se ha propuesto al plomo como un poderoso catalizador en la reacción de Fenton que es la que se produce al catalizar el peróxido de hidrógeno con el metal, dando como resultado la generación de radicales altamente reactivos y así se genera estrés oxidativo (Valko et al., 2007).

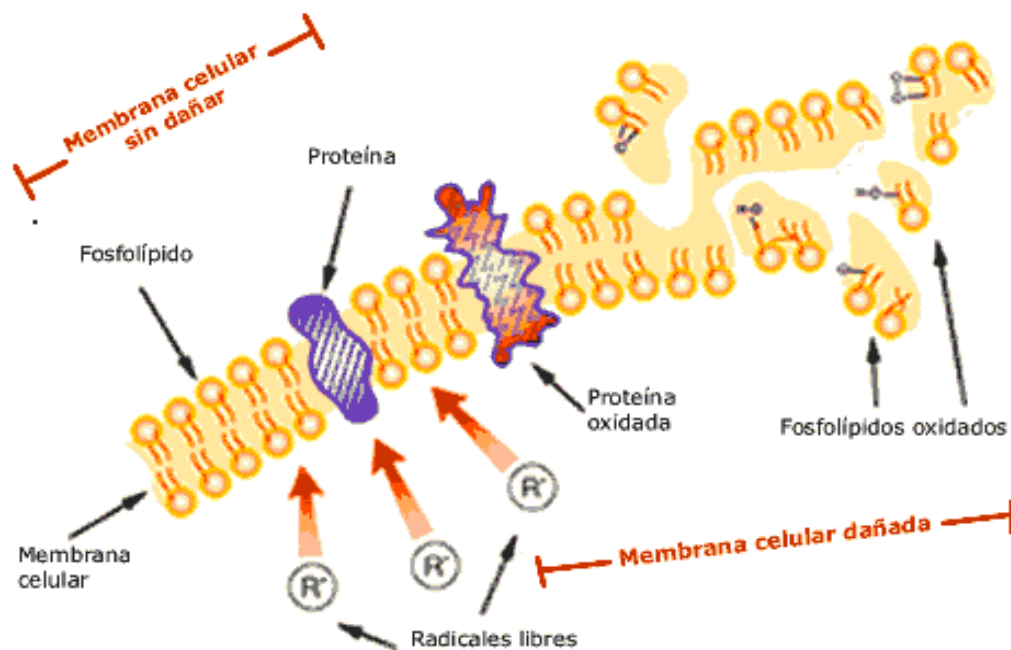


Figura 14. Membrana neuronal. Constituida por alta cantidad de lípidos que la hace susceptible a la oxidación lo que produce altas cantidades de radicales libres que la dañan¹³.

¹³www.educ.ar/.../mcelular.gif



III. PROBLEMA DE INVESTIGACION

En todo el mundo la malnutrición, ya sea por carencias o excesos afecta a la mayor parte de la población. En los países en vías de desarrollo el principal problema es la desnutrición, asociada a la pobreza (Salomons y Gross, 1995).

En México la desnutrición energético-protéica, sigue siendo un problema de salud pública. De acuerdo a la Secretaría de Salud (SSA) en 2005, este tipo de desnutrición causó la muerte de 8,440 adultos y 590 niños menores de un año de edad. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 (ENSANUT 2006) 472,890 niños menores de 5 años de edad, en nuestro país, presentan bajo peso, 194,805 baja talla y alrededor de 153,000 niños presentan emaciación (signo característico de desnutrición). Durante el embarazo las mujeres son susceptibles de padecer desnutrición o algún tipo de malnutrición que impactará en el desarrollo del feto. Estas repercusiones pueden ir desde bajo peso al nacimiento, malformaciones por deficiencia de micro y macro nutrimentos hasta alteraciones en la formación del sustrato anatómico del SNC. El neonato podría cursar con desnutrición postnatalmente impactando en las funciones motoras, cognitivas e incluso sociales.

El plomo además de ser capaz de provocar anemia, influye en el deterioro agudo o crónico del SNC. Si durante la gestación (periodo crítico del desarrollo) se inducen ambas condiciones el efecto será mayor y podría repercutir incluso durante la senectud. El Pb y la malnutrición son factores que inducen la generación de especies reactivas y estas a su vez desencadenan estrés oxidativo, vinculado con diversas patologías.



IV. JUSTIFICACIÓN

Dado que la malnutrición es un problema de salud vigente en nuestro país y en el mundo por deficiencia proteínica asociado a la intoxicación con plomo en el agua contaminada ingerida por la madre. Es importante el estudio del impacto que ambos factores tienen sobre el desarrollo del SNC ya que han sido también elementos propuestos como inductores de estrés oxidativo, en particular en la lipoperoxidación que ocurre en las áreas cerebrales y que son altamente susceptibles porque regulan e integran funciones motoras y cognitivas. Si bien es cierto que el fenómeno de malnutrición ha sido estudiado en distintas modalidades del campo del conocimiento científico y los efectos del Pb como agente neurotóxico en el desarrollo de los individuos, sin embargo, no existe un trabajo que combine ambos factores (malnutrición e intoxicación con Pb) durante la gestación y sus repercusiones por estrés oxidativo en el cerebro de la rata neonata. Por lo que es importante conocer el grado de alteración por la lipoperoxidación en las estructuras como el estriado y el cerebelo que regulan funciones motoras y como el hipocampo y la corteza cerebral que regulan funciones como el aprendizaje y la memoria.



V. OBJETIVOS

Determinar la lipoperoxidación de cuatro estructuras cerebrales de la rata neonata malnutrida e intoxicada prenatalmente.

Objetivos Particulares

- Conocer la región cerebral mas afectada por estrés oxidativo.
- Conocer el efecto de la malnutrición prenatal y la intoxicación con Pb en los pesos corporal y cerebral de los neonatos.

VI. HIPÓTESIS

La malnutrición prenatal es un factor limitante y el plomo es un agente neurotóxico durante el desarrollo del sistema nervioso. Si en la gestación se instalan ambos factores, se provocará un desequilibrio entre los pro y los antioxidantes que producirá estrés oxidativo en los lípidos cerebrales (lipoperoxidación), de manera diferencial en áreas involucradas en procesos cognitivos y motores.

VII. DISEÑO EXPERIMENTAL

Todo el diseño experimental se llevó a cabo de acuerdo a los lineamientos bioéticos del Instituto de Neurobiología (INB) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) para el uso de animales experimentales y de acuerdo con las normas estipuladas en la "Guide for care and use of Laboratory animals" del NIH (1996) y la National Academy of Science (2003)¹⁴ el cual fue aprobado por el Comité de Bioética del INB-UNAM.

VII. A. Animales de experimentación

Se utilizaron 16 ratas hembras Sprague-Dawley (250-300 g) las cuales se obtuvieron del bioterio del INB-UNAM, y se indujo malnutrición mediante la ingesta de dieta hipoproteínica (6 % de caseína) e isocalórica (Harlan Teklad, Madison, WI; Formula TD 92090), en un periodo previo al apareamiento (4 semanas). Se continuó con dicho tratamiento durante los periodos de apareamiento (1 semana)

¹⁴ www.nih.gov



y durante toda la gestación (21 días). En paralelo se formó un grupo de animales nutridos con la dieta estándar para roedores Purina Chow formula 5001 con 23.4% de caseína. Tabla. Las condiciones nutrimentales fueron *ad libitum* (agua y alimento), en condiciones óptimas de bioterio (ciclo de luz-oscuridad de 12:12 horas).

Dieta Estándar (23.4 % proteína) Kcal/g 4.07		Dieta Hipoproteínica (6 % de caseína) e Isocalórica Kcal/g 4.30	
Componentes	%	Componentes	%
Caseína	23.49	Caseína	5.6
L-Metionina	0.67	L-Metionina	0.37
Grasa	12.13	Grasa	15.2
Fibra	5.10	Fibra	6.7
Carbohidratos	59.81	Carbohidratos	65.0

Tabla 1. Información nutrimental de la dieta para roedores. Los nutrimentos y el porcentaje de dieta para roedores. Dieta estándar con 23.4% de proteína (Lab Rodent Diet 5001 PMFeeds, Inc) y dieta baja en proteína (6% de caseína). Nótese que los nutrimentos como los carbohidratos y lípidos son similares en ambas dietas.

VII. A. 1. Registro de pesos corporales

Se registraron los pesos corporales de las hembras cada tercer día y durante la semana de apareamiento. El tapón vaginal de todas las ratas estuvo en constante revisión para la determinación del día cero de gestación (E0). A partir de ese momento se indujo intoxicación por plomo mediante la ingesta de acetato de plomo $(\text{CH}_3\text{COO})_2 \text{Pb}_3\text{H}_2\text{O}$ (JT. Baker Mallinckrodt México) diluido en agua de consumo 0.29 g/L equivalente a 160 ppm.



VII. B. Obtención del tejido cerebral

Se decapitó a la rata neonata, se extrajo el encéfalo y se pesó luego, se colocó en un sistema de enfriamiento (papel filtro embebido en solución salina al 9%, sobre hielo frapé), se separaron los hemisferios; el derecho para la realización de la lipoperoxidación (Triggs y Wilmore 1984, modificada por Santamaría y Ríos 1993) y el izquierdo para el análisis histológico posterior. Para la lipoperoxidación el hemisferio derecho se subdividió en las cuatro áreas cerebrales estudiadas (cerebelo, corteza prefrontal, estriado e hipocampo).

VII. C. Determinación de la lipoperoxidación

La determinación de lipoperoxidación como biomarcador de estrés oxidativo se realizó por la determinación de productos fluorescentes de lipoperoxidación la que se fundamenta en la medición de compuestos fluorescentes de la lipoperoxidación, esta técnica mide los productos finales de la lipoperoxidación (lipofuscina). Para la determinación de lipoperoxidación de las estructuras cerebrales fue necesario establecer una relación entre los gramos de proteína de cada tejido y para conocer tal dato se realizó la determinación de proteínas por el método de Lowry.

VII. C.1. Preparación de la muestra

Se realizó un homogeneizado con el tejido cerebral y se adicionaron 3 mL de solución salina. 0.9 %, se tomaron 2 alícuotas de 1 mL del homogeneizado y se colocaron en tubos de vidrio con tapa y una alícuota de 1 mL en tubos Eppendorf para la determinación de proteínas por método de Lowry (Lowry et al; 1951). Una vez colocadas las 2 alícuotas del homogeneizado en tubos de vidrio y protegidas de la luz se adicionaron 3 mL de solución cloroformo metanol 2:1 v/v a cada tubo y se colocaron en hielo durante 30 minutos para permitir la separación de fases. Después de 30 minutos se descartó la primera fase.



VII. C. 2. Calibración del espectrofotómetro

Se preparó el estándar de quinina con 0.1 μ /mL en ácido sulfúrico 0.05 M. El ajuste de sensibilidad del espectrofotómetro (Perkin–Elmer MPF44A) fue a 370 nm de excitación y 430 nm de emisión. La medición de productos fluorescentes de lipoperoxidación se realizó transfiriendo las muestras del tubo de ensayo a una celda de cuarzo y se agregaron 0.1 mL de metanol. Los resultados se expresaron como unidades de fluorescencia /mg de proteína.

VII. C. 3. Determinación de proteínas por el método de Lowry

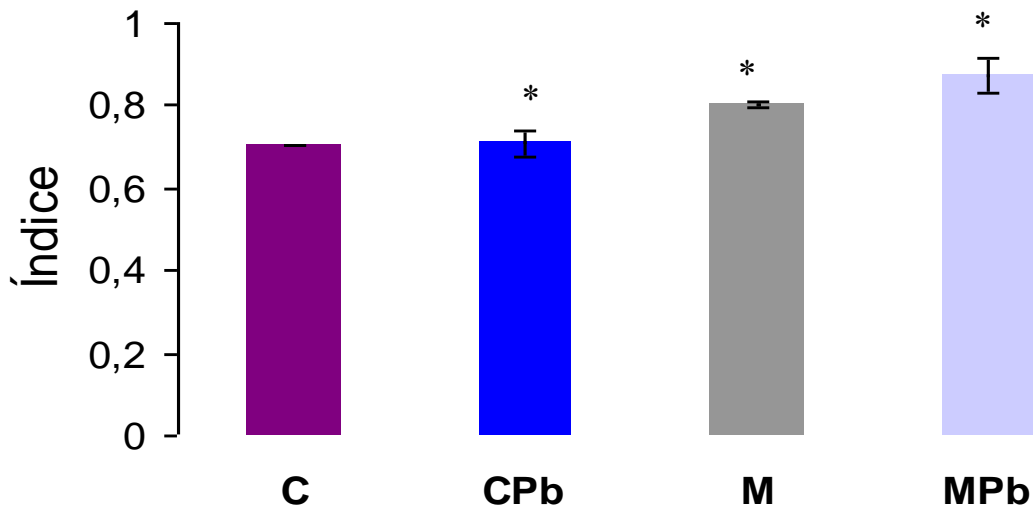
Se preparó una mezcla con 245 mL Na_2CO_3 al 2 % en NaOH 0.1 N, 2.5 mL de tartrato de Na/K al 2 % y 2.5 mL CuSO_4 . Al mismo tiempo, se preparó la solución de albúmina 2.5 mg en aforado a 10 mL. En un recipiente ámbar se preparó la solución de folin fenol con agua desionizada 1:1 v/v en el momento de uso. Se tomaron 100 μ l de muestra ó punto de la curva y se adicionaron 1 mL de la mezcla. Se dejaron reposar por 10 minutos. Posteriormente se agregaron 100 μ l de Folin fenol por tubo. Se dejaron las muestras en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente. La medición se realizó con previo ajuste del espectrofotómetro a λ 550 nm y la selección de la curva de calibración. Se colocaron las muestras en las celdas de plástico y se continuó con la lectura.



VIII. RESULTADOS

En la gráfica 1, se muestra el índice (peso inicial entre peso final) de la ganancia del peso corporal de las gestantes, 4 animales por grupo control (C) y malnutrido (M) con o sin plomo (Pb). El análisis estadístico se realizó con una prueba de ANOVA de una vía seguida de una prueba *post hoc* de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0.05$. El ANOVA mostró diferencias significativas ($F_{3,12} = 8.882$ y $P < 0.002$) entre los grupos y la prueba *post hoc* de Fisher mostró diferencias significativas de $P < 0.024$ entre los grupos C y M; de $P < 0.009$ entre grupos C y MPb y entre los grupos M y MPb con respecto al grupo CPb ($P < 0.028$ y $p < 0.001$, respectivamente).

VIII.1 Ganancia de peso durante la gestación

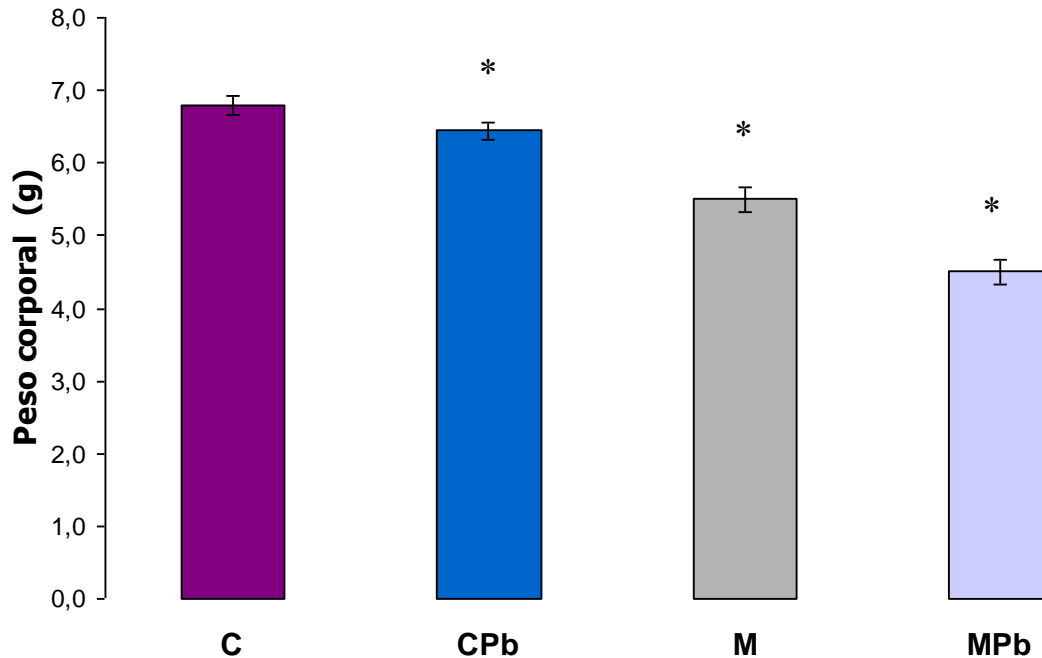


Gráfica 1. Gestantes. Las medias y los \pm SEM del índice corporal (peso inicial entre el peso final) de las madres gestantes en los cuatro grupos: control (C); C con Plomo (CPb), malnutrido (M) y M con plomo (MPb). Nótese las diferencias significativas (*) entre los grupos C vs M y MPb, entre el CPb vs M y MPb.



VIII.2. Pesos corporales de los neonatos

En la grafica 2, se muestran los pesos corporales en gramos de los neonatos (día posnatal cero, P0), 6 animales por grupo: control (C) y malnutrido (M) con o sin plomo (Pb). El ANOVA mostró diferencias significativas ($F_{3,20}=28.425$ y $P<0.001$) entre los grupos y la prueba *post hoc* de Fisher mostró reducciones significativas de $P<0.001$ de los grupos M y MPb con referencia al grupo control y de $P<0.001$) entre los grupos CPb vs MPb; y de $P<0.01$ entre los grupos CPb vs M y entre los grupos M y MPb.

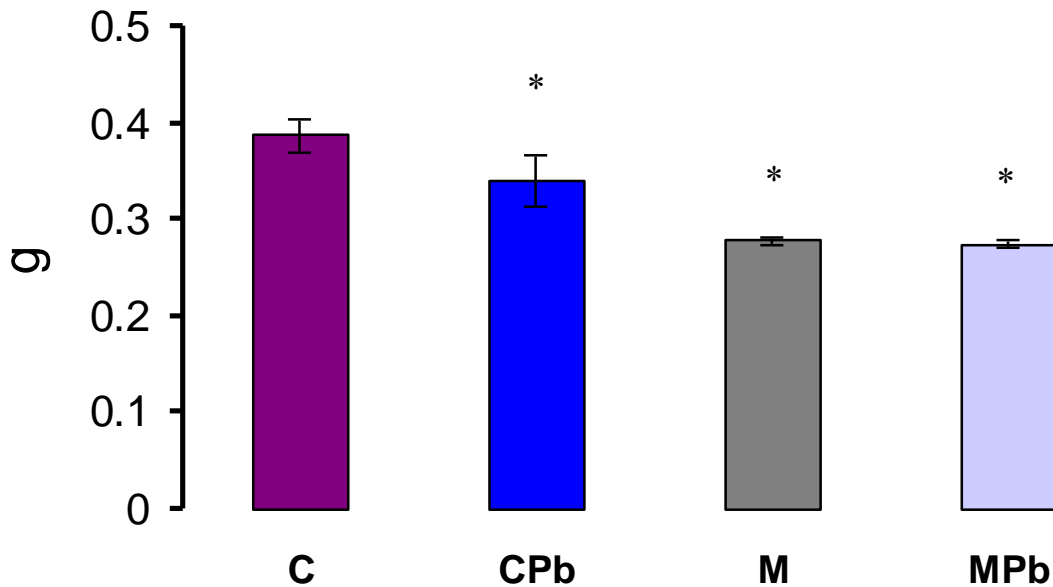


Gráfica 2. Neonatos. Las medias y los \pm SEM de los pesos corporales de los neonatos, de los cuatro grupos: control (C); C con Plomo (CPb), malnutrido (M) y M con plomo (MPb). Nótese la disminución significativa (*) del peso por el plomo y por la malnutrición, entre los grupos C vs M y MPb, entre el CPb vs M y MPb y entre los grupos malnutridos M vs MPb.



VIII. 3. Peso cerebral de los neonatos

En la grafica 3, se muestran los pesos cerebrales en gramos de los neonatos (día posnatal cero, P0), 6 por grupo: control (C) y malnutrido (M) con o sin plomo (Pb). El ANOVA mostró diferencias significativas ($F_{3,20}=11.487$ y $P<0.0001$) entre los grupos. La prueba *post hoc* de Fisher mostró reducciones significativas de $P<0.0001$ de los grupos M y MPb con referencia al grupo control y de $P<0.049$) entre los grupos C y CPb y de $P<0.012$ y de $P<0.0087$ entre los grupos CPb vs M y vs MPb, respectivamente.

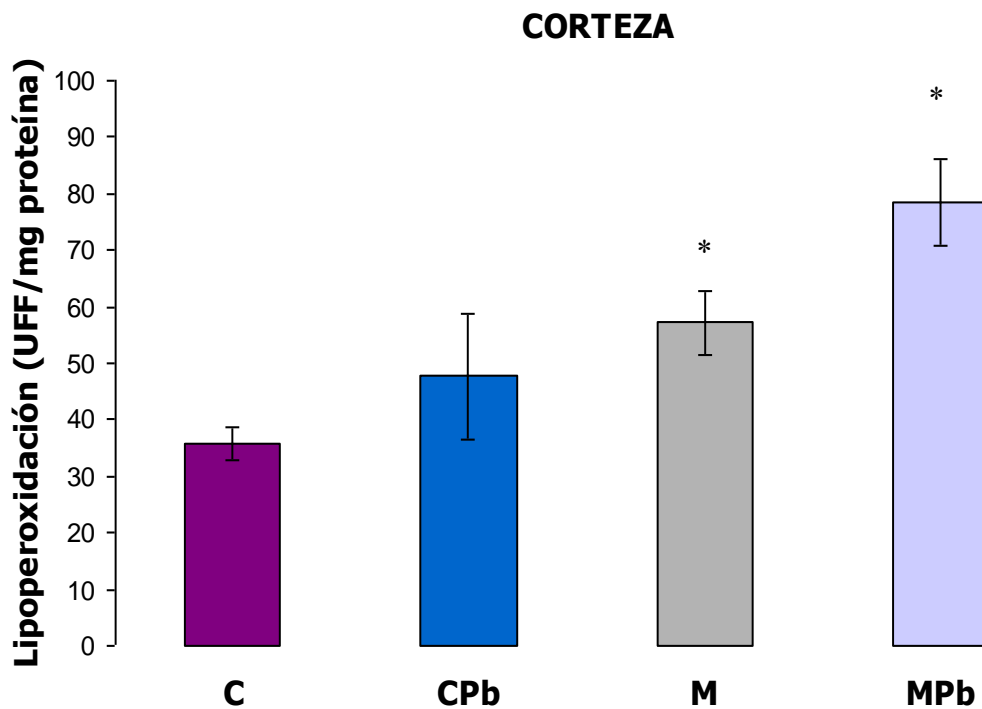


Gráfica 3. Neonatos. Las medias y los \pm SEM de los pesos cerebrales de los neonatos, de los cuatro grupos: control (C); C con Plomo (CPb), malnutrido (M) y M con plomo (MPb). Nótese la disminución significativa (*) del peso cerebral por el plomo y por la malnutrición o por ambos, entre los grupos C vs M y MPb, entre el CPb vs M y MPb.



VIII. 4. Lipoperoxidación en corteza

En la gráfica 4 se muestra la lipoperoxidación en la corteza de los cuatro grupos: control (C) y malnutrido (M) con o sin plomo (Pb). El ANOVA mostró diferencias significativas ($F_{3,20}=5.833$ y $P<0.01$) entre los grupos y la prueba *post hoc* de Fisher mostró diferencias significativas entre los grupos C vs MPb ($P<0.01$) y entre los grupos CPb vs MPb ($P<0.01$).

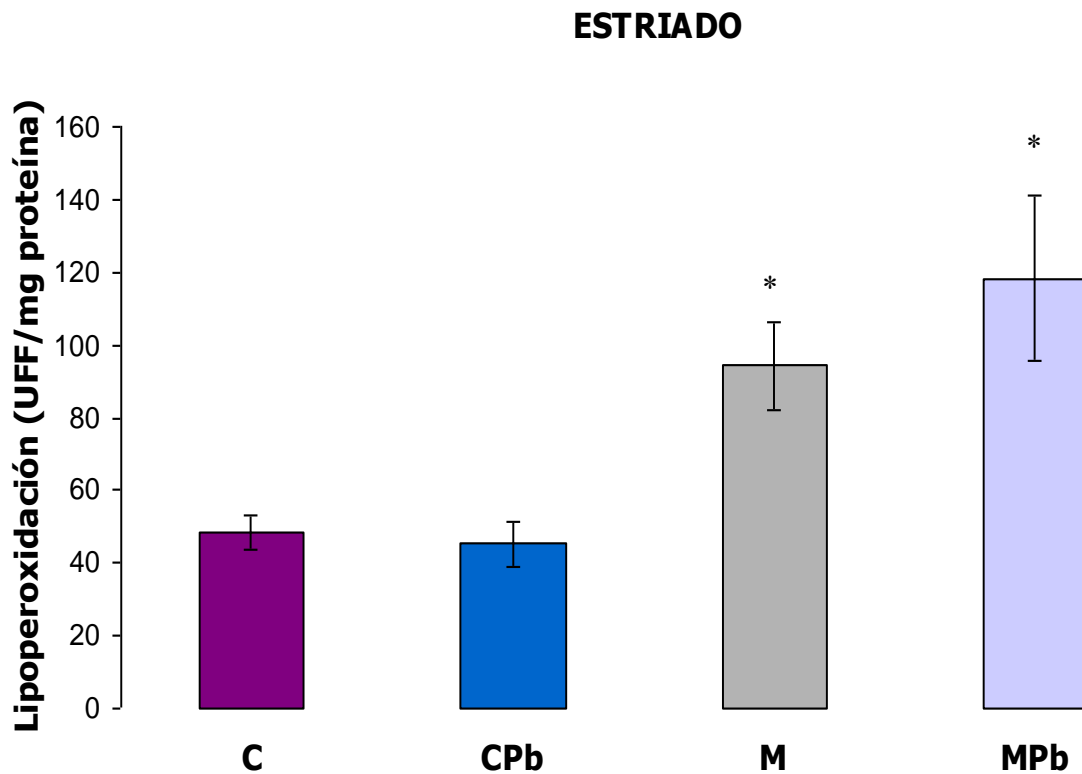


Gráfica 4. Lipoperoxidación en la Corteza . Las medias y los \pm SEM de la lipoperoxidación de los cuatro grupos: Control (C); con plomo (CPb); malnutrido (M) y con plomo (MPb). Las diferencias significativas se indican con un asterisco (*) entre el grupo M con respecto al grupo C y del grupo MPb con respecto al CPb.



VIII. 5. Lipoperoxidación en el estriado

En la grafica 5, se muestra la lipoperoxidación en el estriado de los cuatro grupos: control (C) y malnutrido (M) con o sin plomo (Pb). El ANOVA mostró diferencias significativas ($F_{3,20}=6.57$ y $P<0.01$) entre los grupos y la prueba *post hoc* de Fisher mostró diferencias significativas entre los grupos C vs M ($P<0.05$) y entre los grupos C vs MPb ($P<0.01$) y el CPb vs M ($P<0.05$) y vs MP ($P<0.01$).

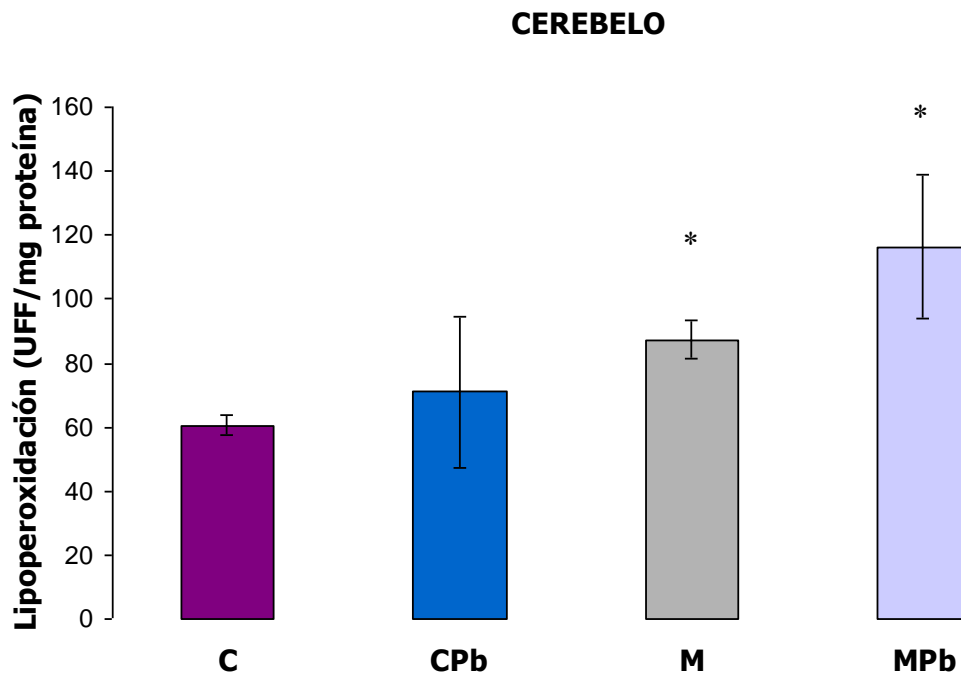


Gráfica 5. Lipoperoxidación en el estriado. Las medias y los \pm SEM de la lipoperoxidación de los cuatro grupos: control (C); C con Plomo (CPb), malnutrido (M) y M con plomo (MPb). El aumento significativo se indica con un asterisco (*), entre el grupo M con respecto al C y CPb y del grupo MPb con respecto al C y CPb.



VIII.6. Lipoperoxidación en el cerebelo

En la grafica 6, se muestra la lipoperoxidación en el cerebelo en los cuatro grupos: control (C) y malnutrido (M) con o sin plomo (Pb). El ANOVA mostró diferencias significativas ($F_{3,20}=6.081$ y $P<0.041$) entre los grupos y la prueba *post hoc* de Fisher mostró diferencias significativas entre los grupos C vs MPb ($P<0.05$) y entre los grupos CP vs MPb ($P<0.01$) y el M vs MPb ($P<0.01$).

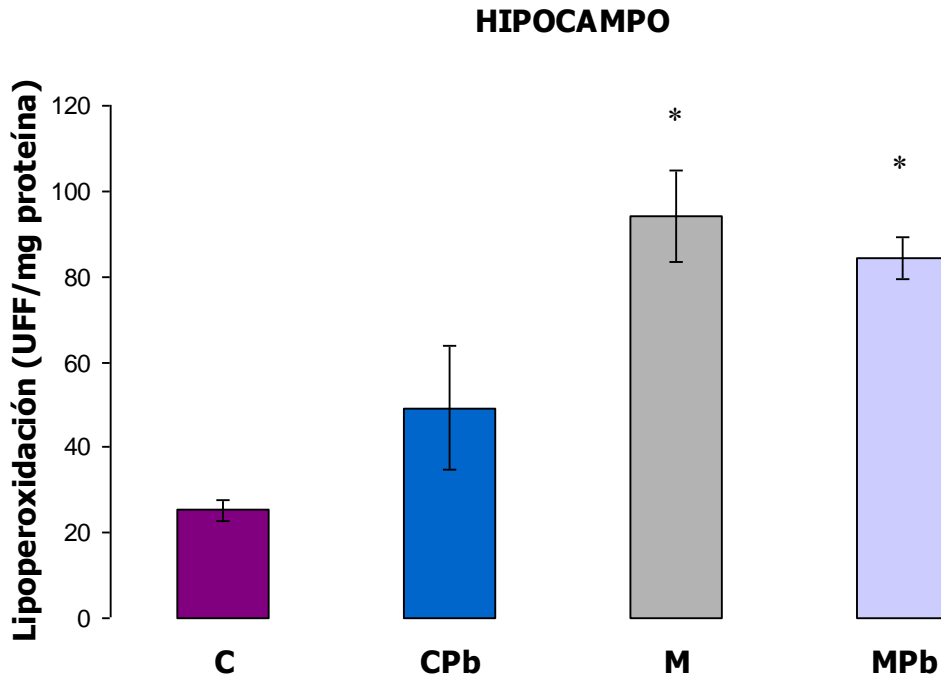


Gráfica 6. Lipoperoxidación en el cerebelo. Las medias y los \pm SEM de la lipoperoxidación de los cuatro grupos: control (C); C con Plomo (CPb), malnutrido (M) y M con plomo. El aumento significativo se indica con un asterisco (*), entre el grupo C vs MPb, CPb vs MPb y M vs MPb.



VIII.7. Lipoperoxidación en el hipocampo

En la grafica 7, se muestra la lipoperoxidación en el hipocampo en los cuatro grupos: control (C) y malnutrido (M) con o sin plomo (Pb). El ANOVA mostró diferencias significativas ($F_{3,20}=12.129$ y $P<0.0001$) entre los grupos y la prueba *post hoc* de Fisher mostró diferencias significativas entre los grupos C vs M ($P<0.0001$) y entre los grupos C vs MPb ($P<0.001$); el CP vs M ($P<0.01$) y el CP vs MPb ($P<0.05$).



Gráfica 7. Lipoperoxidación en el hipocampo. Las medias y los \pm SEM de la lipoperoxidación de los cuatro grupos: control (C); C con Plomo (CPb), malnutrido (M) y M con plomo (MPb). Las diferencias significativas se indican con un asterisco (*) entre el grupo C vs el M y el MPb y entre el CPb vs el M y vs el MPb.



IX. DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo analizar los efectos producidos por dos fenómenos importantes la malnutrición y la intoxicación que pueden ocurrir durante los periodos críticos del desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC). Datos de la OMS sugieren que en Asia, América Latina y África el número de niños con algún tipo de desnutrición (en menores de 5 años) se mantiene en nuestro tiempo y algunos de los factores que desencadenan este tipo de malnutrición suceden durante la etapa prenatal y el destete (periodos críticos del desarrollo). Aunque en el presente estudio no se realizó en humanos sino en ratas, este modelo permitió replicar las condiciones de malnutrición y de intoxicación por plomo durante el periodo crítico prenatal que es altamente vulnerable a los cambios del medio ambiente (Antonio et al., 1999; Finklestein et al., 1998; Ahmed et al., 2000).

El efecto de la malnutrición fue importante por la composición nutrimental de la dieta empleada cuyo efecto sobre el funcionamiento cerebral ha sido previamente reportado. La fórmula de la dieta (tabla I) es isocalórica e hipoproteínica en donde el contenido de L-metionina y de la caseína fueron los mínimos necesarios para garantizar la síntesis de otras proteínas (epinefrina y creatinina), así como nucleótidos metilados y glutatión implicado en la función antioxidante (Griffith, 1999; Li et al., 2002). Así las gestantes empleadas en el estudio se sometieron a esta dieta desde cuatro semanas previas al apareamiento para provocar una adaptación a este régimen nutrimental. Tomando en cuenta este antecedente en el diseño se formó el grupo de malnutridas con mayor peso corporal y se reportó la ganancia del peso durante la gestación como se indica en la gráfica 1 (los datos se expresan con un índice; peso inicial/peso final). Sin embargo, sus crías fueron las de menor peso tanto corporal como cerebral (gráficas 2 y 3), porque se formaron en úteros de madres con una adaptación a la malnutrición previa a la gestación. En otras madres con mayor susceptibilidad a este efecto, tuvieron por una parte alteraciones desde la nidación hasta la



absorción de fetos en el útero, como se observó en las cesáreas que se efectuaron en estas madres. Así, la malnutrición por esta dieta hipoproteínica e isocalórica fue capaz de influir en la fertilidad dado que de las 12 hembras que se sometieron a malnutrición solo el 50% resultaron preñadas y conforme los días de gestación también ocurría la reabsorción de los fetos.

Este hecho resultó aún más crítico en las hembras malnutridas e intoxicadas con plomo porque la mayoría no llegó al término de la gestación. Así solo pudimos tener una hembra gestante malnutrida y otra malnutrida e intoxicada con Pb de las cuales se obtuvieron los neonatos que se reportan en el estudio de la lipoperoxidación.

La dieta durante los periodos críticos del desarrollo del SNC suele ser un factor importante pues los efectos reportados por una malnutrición involucran aspectos desde una reducción de la talla, peso corporal y cerebral así como efectos en la estructura anatómica y funcional del SNC, y dichos efectos dependen del momento en el que la malnutrición se instale (García-Ruiz et al., 1993; Morgane et al., 1993; Díaz-Cintra et al., 1994; Granados-Rojas et al., 2002; Martínez et al., 2003; Díaz-Cintra et al., 2007).

Observaciones en animales de experimentación solo intoxicados con plomo durante el embarazo han mostrado abortos espontáneos y la muerte de los fetos. Tkachenko en 2008 encontró que estas alteraciones se producían por el desequilibrio ácido base en la sangre de la madre gestante, causando una profunda acidosis metabólica. En el estudio de Teijón et al., (2006), que utilizaron 200 y 400 ppm de acetato de plomo en el agua de bebida, reportaron cambios metabólicos importantes en el periodo del destete que no fueron evidentes a largo plazo por la adaptación metabólica y en la reproducción encontraron variación en el número de nacimientos. Estos estudios en relación al nuestro muestran que tanto la malnutrición como la intoxicación por separado producen efectos diferentes durante el desarrollo *in utero*. Si la malnutrición se instala previo al tiempo del embarazo, el metabolismo del animal se puede adaptar. Por el contrario, si la intoxicación es durante la gestación, ocurre el desequilibrio



metabólico. Si se combinan ambos factores, entonces algunos animales sufren una adaptación que les permitió su sobrevivencia.

Con referencia al peso corporal registrado en los neonatos, tanto la malnutrición como la intoxicación tuvieron un mayor impacto, como se indica en la grafica 2, esta reducción fue del 19% en los malnutridos, mientras que los que recibieron además una intoxicación prenatal por Pb su peso se redujo en un 33% con respecto al grupo control. En contraste con la reducción del peso corporal del neonato con dieta normal y plomo fue solo del 5.5% (gráfica 2). La intoxicación con plomo en el peso cerebral en los neonatos del grupo CPb mostró una reducción del 12%, comparado con el 29% en el grupo MPb, y solo la malnutrición produjo una reducción del 28%, como se indica en la gráfica 3.

Por otra parte, la cronología del desarrollo neuronal es diferente (heterocronía) para cada estructura (figura 7), así la corteza el cerebelo y el estriado inician su formación días antes que el hipocampo in útero (Rodier, 1980), estableciéndose por ello periodos críticos en donde la(s) estructura(s) es (son) vulnerable(s). Así, al inducir malnutrición o provocar intoxicación con plomo o ambos factores, se interrumpen estos periodos del desarrollo, en donde además ocurren de manera concomitante la gliogénesis, la formación de vasos, la mielinización y el propio metabolismo celular.

En nuestro estudio el daño inducido por estrés oxidativo en las membranas neuronales se midió de manera indirecta por la lipoperoxidación en aquellas estructuras que llevan a cabo diferentes funciones motoras y cognitivas (corteza, estriado cerebelo e hipocampo, respectivamente). Los resultados indican alteraciones diferenciales de la lipoperoxidación que fueron estadísticamente diferentes para cada grupo de experimentación y en las cuatro estructuras cerebrales estudiadas (gráficas 4-7).

Así la corteza, el cuerpo estriado, el cerebelo y el hipocampo tuvieron la mayor lipoperoxidación en el grupo malnutrido e intoxicado, este aumento fue del 54.3%, 58.9%, 48.0% y 69.88%, respectivamente. Cuando se consideró el aumento de la lipoperoxidación en los otros grupos, la corteza del grupo M con



respecto al C aumentó en un 37% y en el grupo CPb en un 25% con respecto al C. Lo que indica que en la corteza el grupo con mayor estrés oxidativo fue el MPb (gráfica 4). En el estriado los porcentajes de incremento fueron del 48% en el grupo M y solo del 7% en el CPb, por lo tanto el efecto de la M en el estriado se suma al efecto de la contaminación con Pb (gráfica 5). En el cerebelo, los porcentajes de aumento en la lipoperoxidación en el grupo M fue del 30.6% y del CPb 14.8%, con respecto al grupo C, mostrando que el estrés oxidativo fue mayor en el grupo M e intoxicado (gráfica 6). Sin embargo, en el hipocampo el efecto es mayor por la malnutrición porque se aumentó en un 73% con respecto al grupo control. Además, considerando solo el efecto por plomo, entre ambos grupos malnutridos, el aumento es de solo el 4.5% en el grupo MPb. Lo que pone de manifiesto que en el hipocampo, el efecto de estrés oxidativo esta dado mas por la malnutrición que por ambas M e intoxicación (gráfica 7). En concordancia, con otros datos reportados en donde la malnutrición produce alteraciones anatómicas y bioquímicas en la formación hipocampal así como un retardo en los patrones conductuales y en la maduración funcional (Lukoyanov y Andrade, 2000, Kirkwood y Shanley, 2005).

Adicionalmente, la maduración de las estructuras estudiadas, no ocurre al mismo tiempo, así, el hipocampo inicia su formación días antes del alumbramiento y además continúa la neurogénesis en el periodo posnatal (Rodier, 1980), lo que lo hace mas susceptible a factores epigenéticos que alteran su estructura y función, como la malnutrición que retrasa el desarrollo heterocrónico del hipocampo, asociado con la maduración funcional (Andrade et al., 1996; Lukoyanov y Andrade, 2000; Kirkwood y Shanley, 2005). Por esta razón consideramos que al ser una estructura tardía en su formación la intoxicación no tuvo un efecto mayor al de la malnutrición, considerando que la madre gestante fue malnutrida 8 semanas previas al parto este fue un factor epigenético importante. Posiblemente el efecto hubiese sido mayor si se hubiera continuado con la intoxicación hasta el día posnatal 21 del destete (P21) o hasta el día P45 como lo han reportado Villeda et al., en el 2006.



Así, el estrés oxidativo medido por esta técnica de espectrofluorescencia en las áreas estudiadas (corteza, estriado, el cerebelo y el hipocampo) permitió valorar de un modo aproximado las alteraciones diferentes por malnutrición e intoxicación, en las membranas que también son lábiles al estrés oxidativo durante la gestación. Sin embargo, para tener una mejor aproximación es deseable otro estudio que incluya a la actividad de las enzimas antioxidantes como la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD) que también se aumenta de manera significativa en el periodo posnatal (Bokara et al., 2008) y por lo tanto el estrés oxidativo se asocia a los periodos heterocrónicos del desarrollo cerebral en donde cada estructura tiene su propio tiempo susceptible de respuesta al daño.

X. CONCLUSIONES

- La malnutrición prenatal asociada a una intoxicación por Pb genera lipoperoxidación mayor en cerebelo, estriado, y corteza. Mientras que el efecto es mayor en el hipocampo por la restricción proteínica que por la intoxicación, debido a la heterocronía celular durante su desarrollo.
- La malnutrición en combinación con la intoxicación con el Pb, además del riesgo de provocar esterilidad y abortos espontáneos las crías que llegan a término presentan un bajo peso corporal y cerebral lo que repercutirá en las alteraciones cerebrales como lento aprendizaje y retardo mental.



XI. BIBLIOGRAFÍA

Ahmed Nikolai V, Lukoyanov, Andrade JP. 2000. Behavioral effects of protein deprivation and rehabilitation in adult rats: relevance to morphological alterations in the hippocampal formation. *Behav Brain Res.*112:85-97.

Alberts B, Bray D, Hopkin K. 2006. Introducción a la Biología Celular. 2ª ed., Médica Panamericana.

Alemán-Alemán V. 2005. Periodos Críticos del Desarrollo. En Neurodesarrollo neonatal e infantil un enfoque multi-inter y transdisciplinario en la prevención del daño., Panamericana.

Andrade JP, Castanheira-Vale AJ, Paz-Dias PG, Madeira MD, Paula-Barbosa MM. 1996. The dendritic trees of neurons from the hippocampal formation of protein-deprived adult rats. A quantitative Golgi study. *Exp Brain Res.* 109:419-433.

Andrade JP, Paula-Barbosa MM.1996. Protein malnutrition alters the cholinergic and GABAergic systems of the hippocampal formation of the adult rat: an immunocytochemical study. *Neurosci.* 28:211-215.

Antonio MT, Copras I, Leret ML. 1999. Neurochemical changes in newborn rat's brain after gestational cadmium and lead exposure. *Toxicol. Lett.* 104:1-9.

Baker A, Payne CM. Briehl MM, Powis G. 1997. Thioredoxin, a gene found overexpressed in human cancer, inhibits apoptosis in vitro and in vivo. *Cancer Res.* 57:5162-5167.

Bear M, Connors B, Paradiso MA. 1998. Neurociencia: Explorando el Cerebro, Mason.Barcelona.

Bedi KS, Warren MA, Kamel MM. 1987. Effects of a lengthy period of undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the synapse: granule cell ratio in the rat dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* 263:146-158.

Bedi KS. 1992. Spatial learning ability of rats undernourished during early postnatal life. *Physiol Behav.* 51:1001-1007.

Bennis-Taleb N, Ramacle C, Hoet JJ, Reusens B. 1999. A low- protein isocaloric diet during gestation affects brain development and alters permanently cerebral cortex blood vessels in rat offspring. *J. Nutr.* 129:1613-1619.



Bokara KK, Brown E, McCormick R, Yallapragada PR, Rajanna S, Bettaiya R. 2008. Lead-induced increase in antioxidant enzymes and lipid peroxidation products in developing rat brain. *Biometals*. 21:9-16.

Bonato F, Polydoro M, Éverton A, Conte da Frota Júnior ML, Dal-Pizzol F, Rotta NL, Souza OD, Perry ML, Moreira Fonseca JC. 2005. Effect of protein malnutrition on redox state of the hippocampus of rat. *Brain Res*.1042:17-22.

Bourre J. 2004. The role of nutritional factors on the structure and function of the brain: an update on dietary requirements. *Neurology*. 160:767-792.

Bourre J. 2006. Effects of nutrients (in food) on the structure and function of the neurons system: update on dietary requirements for brain. Part 1: micronutrients. *J Nutr Health Aging*. 10:377-385.

Bressler JP, Goldstein GW.1991. Mechanisms of lead neurotoxicity. *Biochem. Pharmacol*. 41:479–484.

Brownlee M, Cerami A. 1981. The biochemistry of the complications of diabetes mellitus. *Annu Rev Biochem*. 50:385-432.

Butterfield DA, Castegna A, Lauderback CM and Drake J. 2002. Evidence that amyloid beta-peptide-induced lipid peroxidation and its sequelae in Alzheimer's disease brain contribute to neuronal death. *Neurobiol Aging*. 23:655-664.

Cadenas E. 1997. Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*. 6:391-397.

Cardoso SM, Pereira C, Oliveira R. 1999. Mitochondrial function is differentially affected upon oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 1:3-13.

Casanueva E, Kaufer-Hotwitz M, Pérez-Liazur AB, Arroyo P. 2008. Nutriología Médica. 3a ed., Médica Panamericana, México.

Castro CA, Tracy M, Rudy JM. 1989. Early-life undernutrition impairs the development of the learning and short-term memory processes mediating performance in a conditional spatial discrimination task. *Behav. Brain. Res*. 32:255-264.

Cintra L, Aguilar A, Granados-Rojas L, Galvan A, Kemper T, DeBassio W, Galler J, Morgane P, Duran P, Díaz-Cintra S. 1997a. Effects of prenatal protein malnutrition on hippocampal CA1 pyramidal cells in rats of four age groups. *Hippocampus*. 7:192-203.



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

Coupé B, Dutriez-Casteloot I, Breton C, Lefèvre F, Mairesse J, Dickes-Coopman A, Silhol M, Tapia-Arancibia L, Lesage J, Vieau D. 2009. Perinatal undernutrition modifies cell proliferation and brain-derived neurotrophic factor levels during critical time-windows for hypothalamic and hippocampal development in the male rat. *Neuroendocrinol*. 21:40-48.

De la Mata C. 2008. Malnutrición, desnutrición y sobrealimentación. *Rev. Med. Rosario*. 74:17-20.

Delgado JM, Ferrus A, Mora F, Rubia FJ. 1998. Manual de Neurociencia. Madrid: Síntesis. 320-550.

Díaz-Cintra S, Cintra L, Galván A, Aguilar A, Kemper T, Morgane PJ. 1991. Effects of prenatal protein deprivation on the postnatal development of granule cells in the fascia dentata. *J. Comp. Neurol*. 310:356-364.

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

Díaz-Cintra S, González-Maciel A, Morales MA, Aguilar A, Cintra L, Prado-Alcalá RA. 2007. Protein malnutrition differentially alters the number of glutamic acid decarboxylase-67 interneurons in dentate gyrus and CA1-3 subfields of the dorsal hippocampus. *Exp Neurol*. 208:47-53.

Díaz-Cintra S, Granados Rojas L, Sánchez A, Cintra L. 2001. En: Temas Selectos de Neurociencias II. Capítulo 21. El Hipocampo y la Malnutrición. Velásquez Moctezuma J. Ed. UAM-PUIS, pp 437-456.

Doadrio AL. 2006. Ecotoxicología y acción toxicológica del plomo. *An. R. Acad. Nac. Farm*. 72:408-422.

Domínguez YL. 2009. La dieta en la enfermedad de Alzheimer, The diet in Alzheimer's disease. *Revista Cubana de Salud Pública*. 35:55-64.

Dorado C, Rugerio C, Rivas S. 2003. Estrés Oxidativo y neurodegeneración. *Fac Med UNAM*. 46:229-235.

Ferguson SE, Smith GN, Salenieks ME, Windrim R, Walker MC. 2002. Preterm premature rupture of membranes. Nutritional and socioeconomic factors. *Obstet Gynecol*. 6:1250-1256.



Finklestein Y, Markowitz, ME, Rosen JF: 1998. Low-level lead-induced neurotoxicity in children: an update on central nervous system effects. *Brain Res.* 27:168-176.

Fjeringstad EJ, Danscher G and Fjeringstad E. 1974 .Hippocampus: selective concentration of lead in the normal rat brain. *Brain Res.* 80:350–354

Fukuda MT, Francolin-Silva AL, Almeida Sousa S. 2002. Early postnatal protein malnutrition affects learning and memory in the distal but not in the proximal cue version of the Morris water maze. *Behav. Brain. Res.* 133:271-277.

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

Goldstain GW. 1993. Evidence that lead acts a Calcium substitute in a second messenger methabilism. *Neurotoxicol.* 14:97-101.

Granados-Rojas L, Aguilar A, Díaz-Cintra S. 2004. The mossy fiber system of hippocampal formations is decreased by chronic and postnatal but not by prenatal protein malnutrition in rats. *J. Nutr. Neurosci.* 00:1-9.

Granados-Rojas L, Larriva-Sahd J, Cintra I, Gutiérrez-Ospina G, Rondán A, Aguilar A, Díaz-Cintra S. 2002. Prenatal protein malnutrition decreases hippocampal CA3 asymmetric synaptic contacts in adult rats. *Brain Res.* 933: 91-173

Griffith OW. 1999. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radic Biol Med.* 27:922-935.

Gu Y, Wang L, Xiao C, Guo F, Ruan DY. 2005. Effects of lead on voltage-gated sodium channels in rat hippocampal CA1 neurons. *Neuroscience.* 133:679-690

Haines D. 2003. Principios de Neurociencia. 2^{da} ed., Elsevier Science.

Halliwell B, Gutteridge JM.1997. Lipid peroxidation in brain homogenates: the role of iron and hydroxyl radicals. *J Neurochem.*69:1330-1337.

Halliwell B, Hu ML, Louie S, Duvall TR, Tarkington BK, Motchnik P, Cross CE. 1992. Interaction of nitrogen dioxide with human plasma. Antioxidant depletion and oxidative damage. *Febs Lett.* 16:62-66.

Huerta-Romero R, Ríos C. 2001. Enhanced brain regional lipid peroxidation in developing rats exposed to low level lead acetate. *Brain Res Bull.* 55:247-251.

Kandel E, Schwartz JH, Jesell TM. 1998. Neurociencia y Conducta. Prentice Hall.



Kirkwood TB, Shanley DP. 2005. Food restriction, evolution and ageing. *Mech Ageing Dev.* 126:1011-1016.

Lasley SM. 1992. Regulation of dopaminergic activity, but not tyrosine hydroxylase, is diminished after chronic inorganic lead exposure. *NeuroToxicology.* 13:625-636.

Li J, Wang H, Stoner GD, Bray TM. 2002. Dietary supplementation with cysteine prodrugs selectively restores tissue glutathione levels and redox status in protein-malnourished mice. *J Nutr Biochem.* 13:625-633.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 193:265-275.

Lukoyanov NV, Andrade JP, Dulce Madeira M, Paula-Barbosa MM. 1999. Effects of age and sex on the water maze performance and hippocampal cholinergic fibers in rats. *Neurosci Lett.* 269:141-144.

Lukoyanov NV, Andrade JP. 2000. Behavioral effects of protein deprivation and rehabilitation in adult rats: relevance to morphological alterations in the hippocampal formation. *Behav Brain Res.* 112:85-97.

Mahan LD. Escott-Stump, S. 2000. Nutrición y Dietoterapia de Krause 10ª ed., McGraw-Hill Interamericana, México.

Martínez CD, Vargas Rugeiro C, Rivas Arancibia S. 2003. Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Rev. Facultad Med.* 46:229-235.

Martínez Y, Díaz-Cintra S, León-Jacinto U, Aguilar-Vázquez A, Medina AC, Quirarte GL, Prado-Alcalá RA. 2009. Effects of postnatal malnutrition and senescence on learning, long-term memory, and extinction in the rat. *Behav Brain Res.* 203:48-53.

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

Morgane PJ, Miller M, Kemper T, Stern W, Forbes W, Hall, R, Bronzino J, Kissane J, Hawrylewicz E, Resnick O. 1978. Effect of chronic protein malnutrition on experimentally induced seizures in the rat. *Exp Neurol.* 62:475-481.

Morgane PJ, Mockler DJ, Galler JR. 2002. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neurosci Biobehav. Rev.* 26:471-483.



Pamplona R, Portero-Otín M, Riba D, Requena JR, Thorpe SR, López-Torres M, Barja G. 2000. Low fatty acid unsaturation: a mechanism for lowered lipoperoxidative modification of tissue proteins in mammalian species with long life spans. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 6:286-291.

Paradies G, Petrosillo G, Pistolese M, Ruggiero FM. 2002. Reactive oxygen species affect mitochondrial electron transport complex I activity through oxidative cardiolipin damage. *Gene.* 286:135-141.

Parra-Gómez L, Téllez-Girón J, Escobar C. 2003. La desnutrición y sus consecuencias sobre el metabolismo intermedio. *Fac Med UNAM.* 45:32-36.

Partadiredja G, Worrall S, Simpson R, Bedi KS. 2008. Pre-weaning undernutrition alters the expression levels of reactive oxygen species enzymes but not their activity levels or lipid peroxidation in the rat brain. *Brain Res.* 1222:69-78.

Petrosillo G, Ruggiero FM, Paradies G. 2003. Role of reactive oxygen species and cardiolipin in the release of cytochrome c from mitochondria. *Faseb J.* 15:2202-2208.

Poch ML. Neurobiología del Desarrollo Temprano 2001. *Contextos educativos.* 4:79-94.

Puelles L, Martínez S, Martínez de la Torre M. 2008. Neuroanatomía. Madrid: Médica Panamericana.

Rajanna B, Yallpragada PR, Hall E, Rajanna S. 1996. In vitro effect of lead on Ca^{2+} ATPase in synaptic plasma membranes and microsomes of rat cerebral cortex and cerebellum. *Ecotoxicol Environ Saf.* 33:157-162.

Rodier MP, 1980. Chronology of neuron development: Animal Studies and their clinical Implications. *Develop. Med. Child. Neurol.* 22: 525-545.

Salomons NW, Gross R. 1995. Urban nutrition in developing countries. *Nutr. Rev.* 53: 90-95.

Santamaría A, Ríos C. 1993. MK-801, an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, blocks quinolinic acid-induced lipid peroxidation in rat corpus striatum. *Neurosci Lett.* 1-2:51-54.

Sayre LM, Smith MA, Perry G. 2001. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr Med Chem.* 8:721-738.



- Serra LI, Aranceta J y Mataix J. 2006. *Nutrición y Salud Pública*. Masson.
- Stadtman ER. 2004. Role of oxidant species in aging. *Curr Med Chem*. 9:1105-1112.
- Teijón C, Olmo R, Blanco D, Romero A, Teijón JM. 2006. Low doses of lead: effects on reproduction and development in rats. *Biol Trace Elem Res*. 111:151-165.
- Tonkiss J, Galler J, Morgane PJ, Bronzino JD, Austin-LaFrance RJ. 1993. Prenatal protein malnutrition and postnatal brain function. *Ann N Y Acad Sci*. 678:215-227.
- Toscano CD, Guilarte TR. 2005. Lead neurotoxicity: from exposure to molecular effects. *Brain Res*. 49:529-554.
- Tkachenko TA. 2008. Acid-base state of blood in pregnant rats after application of lead acetate. *Ukr Biokhim Zh*. 80:112-116.
- Triggs WJ, Willmore LJ. 1984. In vivo lipid peroxidation in rat brain following intracortical Fe²⁺ injection. *J Neurochem*. 42:976-980.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 39:44-84.
- Villeda-Hernández J, Méndez Armenta M, Barroso-Moguel R, Trejo-Solis MC, Guevara J, Rios C. 2006. Morphometric analysis of brain lesions in rat fetuses prenatally exposed to low-level lead acetate: correlation with lipid peroxidation. *Histol Histopathol*. 21:609-617.
- Wang M, Dhingra K, Hittelman WN, Liehr JG, de Andrade M, Li D. 1996. Lipid peroxidation-induced putative malondialdehyde-DNA adducts in human breast tissues. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 5:705-710.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT). 2006.
<http://www.insp.mx/ensanut/>.
- Organización Mundial de la Salud (OMS)
<http://www.who.int/es/>
- Secretaria de Salud Pública SSA. México. 2010
<http://www.ssa.gob.mx>



LISTA DE FIGURAS, GRÁFICAS Y TABLA

Figura 1. División del sistema nervioso.

Figura 2. Elementos del tejido cerebral.

Figura 3. Sinapsis.

Figura 4. Formación del tubo neural (neurilización).

Figura 5. Divisiones del encéfalo de rata.

Figura 6. Mielinización y elementos.

Figura 7. Procesos celulares del sistema nervioso durante el desarrollo.

Figura 8. Cerebelo.

Figura 9. Corteza prefrontal.

Figura 10. Cuerpo estriado.

Figura 11. Localización del hipocampo.

Figura 12. Estrés oxidativo.

Figura 13. Membrana celular de células eucariotas.

Figura 14. Membrana neuronal.

Tabla 1. Información nutrimental de dieta para roedores.

Gráfica 1. Índice de la ganancia de peso durante la gestación.

Gráfica 2. Pesos corporales de neonatos.

Gráfica 3. Pesos cerebrales de neonatos.

Gráfica 4. Lipoperoxidación en la corteza.

Gráfica 5. Lipoperoxidación en el cuerpo estriado.

Gráfica 6. Lipoperoxidación en el cerebelo.

Gráfica 7. Lipoperoxidación en el hipocampo.

