

La desnutrición crónica en ratas causada por alimentación a base de maíz aumenta la susceptibilidad a convulsiones experimentalmente inducidas por la administración de L-glutamato monosódico

Alfredo Feria-Velasco¹, Sandra Orozco-Suárez³, Javier Cáramez-Torres⁴, Alma Rosa del Angel⁵, Carlos Beas-Zárate^{5,2}

RESUMEN

Introducción: el alimentar ratas con dieta a base de maíz (deficiente en triptofano, lisina y proteínas), antes y durante la preñez, se ha asociado con una disminución en la síntesis de serotonina cerebral y una disminución de neuronas GABAérgicas en los productos, en comparación con lo observado en animales alimentados con dieta *Chow* Purina normal (grupo CTRL), con alteración de la excitabilidad cerebral. Por otro lado, la administración sistémica de una solución hiperosmolar de L-glutamato monosódico (GMS) a ratas, representa un valioso modelo de *status epilepticus*. **Objetivo:** el trabajo se orientó a investigar si los cambios cerebrales resultantes de alimentar ratas con una dieta a base de maíz (pre y posnatal), pudieran estar asociados con mayor susceptibilidad a presentar convulsiones inducidas con GMS, en un modelo bien establecido de *status epilepticus*. **Material y métodos:** se produjo desnutrición crónica en ratas hembra alimentadas con dieta a base de maíz, antes y durante la preñez y lactancia. Los productos macho continuaron con este tipo de alimentación después del destete, hasta los 60 días de edad. En estos animales, se evaluó el patrón y severidad del fenómeno convulsivo inducido mediante la inyección de diferentes dosis de GMS. En los productos adultos se evaluó el patrón y la severidad del fenómeno convulsivo inducido por diferentes dosis de GMS. Como la dieta de maíz

contiene baja proporción de proteína (aproximadamente 8%) un grupo de animales alimentado con dieta hipoprotéica se incluyó como grupo control apareado (HIP), mientras que un grupo de animales alimentados con dieta normal *Chow* Purina fue incluido como control general (CTRL). **Resultados:** los animales de los grupos MAIZ e HIP mostraron una mayor susceptibilidad a las convulsiones que aquellos que fueron alimentados con la dieta control (CTRL). Los efectos más severos se observaron en las ratas del grupo alimentado a base de maíz. **Conclusión:** los resultados obtenidos están directamente relacionados con la diferencia de nutrientes contenidos en las dietas (en especial triptofano y proteínas), los cuales están

Recibido: 17 febrero 2005. Aceptado: 9 marzo 2005.

¹Unidad de Morfología de Alta Resolución. ²Laboratorio de Neurobiología, Depto. de Biología Celular y Molecular, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Universidad de Guadalajara. ³Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas, H. Especialidades, CMN, Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), México D.F. ⁴Depto. de Producción Animal, CUCBA, Universidad de Guadalajara, México. ⁵División de Investigación en Neurociencias, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS, Guadalajara, Jal. México. Correspondencia: Alfredo Feria-Velasco Unidad de Morfología de Alta Resolución CUCBA, Universidad de Guadalajara Km. 15.5 Carr. Guad.-Nogales 45100 Las Agujas Nextipac, Zapopan, Jal. México. E-mail: fva35671@cucba.udg.mx

quiza asociados con alteraciones en los sistemas inhibitorios de neurotransmisión que regulan la excitabilidad cerebral.

Palabras clave: dieta de maíz, convulsiones experimentales, hiperexcitabilidad, desnutrición crónica.

CHRONIC MALNUTRITION CAUSED BY CORN FEEDING INCREASES THE SUSCEPTIBILITY FOR CONVULSIONS EXPERIMENTALLY INDUCED BY MONOSODIUM L-GLUTAMATE IN RATS

ABSTRACT

Introduction: feeding rats with a corn-based diet (deficient in tryptophan, lysine and protein) before and during pregnancy has been associated with low brain serotonin synthesis and fewer cortical GABAergic neurons in offspring than in animals fed with normal *Purina Chow* (CTRL group), altering brain excitability. On the other hand, the systemic injection of a hyperosmolar solution of monosodium L-glutamate (MSG) to rats represents a valuable model of *status epilepticus*. **Objective:** this work was oriented to investigate whether cerebral changes induced by feeding rats a corn-based diet (prenatal and postnatally), might be associated with more susceptibility to MSG-induced seizures in a well-established model of *status epilepticus*. **Materials and methods:** chronic malnutrition was induced in adult female rats with a corn-based diet (CORN group) before and during pregnancy and the males from their offspring continued with the same diet until becoming 60-days old. The pattern and severity of convulsive phenomenon induced by various doses of MSG were evaluated in these animals. As the corn diet contains a low proportion of protein (8%), a group of animals under a hypoproteic diet was included as a matched control group (HYP), while a group of animals fed a normal Chow Purina diet was included as a normal control group (CTRL). **Results:** animals from CORN and HYP groups showed a greater susceptibility to convulsions than those fed a CTRL diet. The most severe effect was seen in rats from the CORN group. **Conclusion:** the results obtained are directly related to differences in the nutrient content of diets (especialmente TRY and protein), which are probably associated with alterations in the inhibitory neurotransmitter systems regulating brain excitability.

Key words: corn diet, experimental convulsions, hyperexcitability, malnourished rats.

Las restricciones nutricionales que se presentan en épocas tempranas de la vida tienen un efecto a menudo permanente sobre el desarrollo del sistema nervioso central (SNC), lo que resulta en trastornos anatómicos, bioquímicos y fisiológicos^{1,2}. Con el empleo de un modelo animal de desnutrición caracterizado por una reducción sustancial en los niveles cerebrales de triptófano (TRI), serotonina (5-HT) y ácido 5-hidroxi-indol-acético (5-HIA)³⁻⁶, hemos comunicado una reducción en el número de células nerviosas GABAérgicas^{7,8} y serotoninérgicas⁹, en la corteza cerebral y en los núcleos del rafe, respectivamente. Además, hemos descrito la existencia de respuestas plásticas en la corteza cerebelosa de los productos de ratas que han estado sometidas al mismo modelo experimental empleado para el presente trabajo, con especial atención en las características morfológicas de la capa molecular de la corteza cerebelosa, células de Purkinje y células gliales de Bergmann¹⁰.

La proteína del maíz es una de las más deficientes en TRI y lisina de todas las proteínas que por lo regular ingiere el ser humano. El administrar esa dieta a ratas se ha asociado con una baja concentración de 5-HT y de niveles de 5-HIA en cerebro, que pudieran al menos parcialmente, reflejar una disminución en la formación de 5-HT como un resultado de la deficiencia de sustrato^{3,6}, que quizá altera el desarrollo posnatal de las interneuronas cerebrales. En esas condiciones, la formación y función de los circuitos que son esenciales para establecer el delicado balance entre las actividades inhibitorias y excitatorias en estructuras cerebrales críticas, tales como el giro dentado de la formación hipocámpal, las cortezas cerebelosa y cerebral se alteran. No se ha establecido con precisión una relación directa entre la desnutrición y la epilepsia. Sin embargo, numerosos estudios en animales sugieren que la desnutrición puede tener efectos deletéreos sobre el cerebro que predisponga a los animales a desarrollar convulsiones¹¹.

El glutamato monosódico (GMS) es un aditivo alimenticio común, que produce trastornos motores que se manifiestan como convulsiones epiléptiformes cuando se administra por vía parenteral a ratas¹²⁻¹⁷. Tales efectos son semejantes a los producidos por la inyección de intracisternal de L-glutamato¹⁸ y los diferentes episodios del fenómeno convulsivo pueden ser fácilmente registrados. El acarreador a glutamato (Glu) a nivel de la barrera hematoencefálica (BHE) se satura virtualmente bajo condiciones fisiológicas y el paso

de Glu de la sangre al parénquima cerebral es mucho más bajo que el flujo o paso del cerebro al torrente circulatorio¹⁹. Pero, cuando se administra el Glu en una solución hiperosmolar, se tiene una entrada masiva al parénquima cerebral a través de la apertura de la BHE y puede producir signos de hiperexcitabilidad, afectando la fisiología de diferentes sistemas cerebrales²⁰.

El objetivo del presente estudio fue investigar si los cambios del SNC inducidos por la restricción de TRI y proteína en las ratas alimentadas con una dieta a base de maíz pudieran estar asociados con una mayor susceptibilidad a convulsiones inducidas por GMS en un modelo bien establecido de *status epilepticus* experimental.

MATERIAL Y MÉTODOS

El paradigma para inducir desnutrición

Se utilizaron 21 ratas hembra de la cepa Wistar, nulíparas, de 60 días de edad, las cuales se dividieron en 3 grupos de 7 ratas cada uno y que se alimentaron con las siguientes dietas: **a.** Grupo maíz (MAIZ) alimentadas con una dieta a base de maíz; **b.** Un grupo alimentado con una dieta hipoprotéica (HIP) que contenía 8% de proteínas sobre una base de Chow Purina; **c.** Un grupo control (CTRL) alimentado con una dieta Chow Purina, que contenía 23% de proteína (tabla 1). Las ratas tuvieron libre acceso a sus respectivas dietas y agua durante 6 semanas. Después de ese tiempo, los animales fueron apareados con machos sanos y la preñez se determinó por examen de frotis vaginales, con la identificación de espermatozoides y tapón vaginal mucoide. Las ratas preñadas se mantuvieron en jaulas individuales a $23 \pm 1^\circ$ C de temperatura y 45 a 55% de humedad ambiental relativa, bajo ciclos controlados de luz-oscuridad (10 horas luz, 14 horas oscuridad). La cantidad de alimento ingerido fue similar durante la gestación en los grupos CTRL e HIP de ratas, mientras que fue ligeramente menor en el grupo MAIZ, como ha sido comunicado en trabajos previos^{4,10}. Al nacimiento, las camadas en todos los grupos, se ajustaron a ocho productos con número similar de machos y hembras por grupo. Los productos en cada grupo fueron alimentados por sus respectivas madres durante la lactancia. Al destete, los animales en cada camada fueron alimentados con la misma dieta de sus madres hasta que alcanzaron los 60 días de edad.

Procedimiento para las convulsiones

Cuando las ratas macho en los tres grupos alcanzaron 60 días de edad, se les inyectó GMS por vía

intraperitoneal (i.p.), de acuerdo con las dietas recibidas (ver tablas 2 y 3) a las diferentes dosis, de 4.0 a 5.5 mg/g (23.2 a 31.9 mmol/kg) a partir de una solución acuosa al 50% del compuesto. El volumen total inyectado varió entre 0.1 y 1.0 ml. Las ratas control de edades similares a aquellas en los grupos experimentales de cada dieta fueron inyectadas i.p., ya sea con una solución de cloruro de sodio equimolar a la de GMS (eqNaCl) o solución salina fisiológica (SSF) en volúmenes proporcionales a aquellos empleados en los animales inyectados con GMS. Ninguna rata fue utilizada más de una vez para un experimento y el aseo y las condiciones de cuidado, alimentación, limpieza, ventilación y tratamiento de los animales de laboratorio fueron cuidadosamente observadas, de acuerdo con la Ley General de Salud (Leyes y Códigos de México) para la protección de animales²¹, lo cual está de acuerdo con la guía de los Institutos Nacionales de Salud para el cuidado y uso de los animales de laboratorios de los Estados Unidos de Norteamérica²².

En todos los animales, la incidencia de los episodios convulsivos y las muertes, así como la duración y características de los trastornos motores fueron registradas visualmente durante un periodo de 8 horas sobre unas bases ciegas.

Intensidad de las convulsiones

La intensidad del comportamiento convulsivo fue registrada de acuerdo a la escala modificada de Racine²³, con base en lo siguiente: grado 1, los animales presentaron convulsiones clónicas de los miembros superiores y algunas contracciones tónicas de los miembros inferiores; grado 2, los animales mostraron convulsiones clónico tónicas con periodos interictales claramente distinguidos e identificables; grado 3, los animales mostraron convulsiones clónico-tónicas y presentaron *status epilepticus* seguidos por una hiperextensión tónica de todos los miembros con recuperación posterior; grado 4, los animales alcanzaron *status epilepticus* con periodos interictales muy cortos o ausentes y muerte¹³.

Análisis estadístico

Se empleó la prueba χ^2 no paramétrica para evaluar la significancia de las diferencias en la incidencia de convulsiones inducidas con GMS a sus diferentes dosis, mientras que la prueba de Newman-Keuls se empleó para comparar los valores promedio de los parámetros registrados en todos los grupos a las diferentes dosis de GMS administradas.

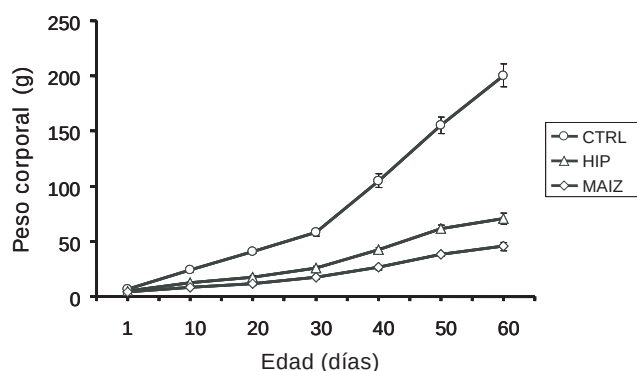


Figura 1. Peso corporal de las ratas de los grupos control (CTRL), hipoprotéico (HIP) y maíz (MAIZ). Los datos representan los valores promedio $\pm$ Error estándar. Las cifras de los animales de los grupos MAIZ e HIP, de 20 a 60 días de edad, son estadísticamente diferentes a las del grupo CTRL a $**p<0.01$; las cifras de los animales del grupo MAIZ, de 40 a 60 días de edad, son estadísticamente diferentes a las del grupo HIP a $*p<0.05$.

RESULTADOS

Las ratas con desnutrición crónica inducida al ser alimentadas con la dieta a base de maíz (grupo MAIZ) mostraron una significativa disminución en la curva de ganancia de peso, comparada con lo que se observó en los animales alimentados con la dieta hipoprotéica (proteínas completas al 8%) (grupo HIP) y la dieta normal a base de Chow Purina (23% de proteína) (grupo CTRL) (figura 1).

Todos los animales inyectados con GMS, a dosis mayores de 4.8 mg/g mostraron actividad convulsiva. Por otro lado, todos los animales inyectados con las dosis correspondientes de la solución eqNaCl y con SSF no mostraron convulsiones o signos de hiperexcitabilidad.

Componentes	CTRL	Grupo HIP	MAIZ
Chow purina	98.00	34.04	---
Harina de maíz	---	---	86.00
Dextrosa	---	19.00	---
Sacarosa	---	20.10	---
Dextrina	---	12.67	---
Aceite vegetal	2.00	3.13	4.00
Mezcla de minerales RH ^a	---	1.00	4.00
Mezcla de vitaminas ^a	---	1.00	1.00
Fibra celulosa ^b	---	9.06	6.90
Porcentaje de proteína	23.00	8.00	8.00
Kilocalorías por 100 g	350.00	350.46	348.50
Contenido de Triptofano (g/100 g dieta)	0.30	0.10	0.058

^aObtenido de ICN Biomedicals, Inc.

^aObtenido de ICN Biomedicals, Inc.

^bObtenido del Instituto de Madera, Celulosa y Papel, Universidad de Guadalajara

CTRL = Dieta a base de Chow Purina; HIP = dieta hipoprotéica; MAIZ = dieta a base de maíz

Tabla 1. Composición de las dietas (g/100 g dieta).

Se evaluaron 5 parámetros para representar los efectos de la inyección de GMS en todos los grupos estudiados: **a.** Latencia a movimientos este-reotipados; **b.** Latencia a convulsiones. **c.** Duración del periodo convulsivo. **d.** Frecuencia de las convulsiones. y **e.** Severidad del periodo convulsivo.

No se observaron movimientos estereotipados ni convulsiones en todos los grupos de animales cuando se inyectó GMS i.p. a dosis de 4.0 mg/g. Tanto los movimientos estereotipados, como las convulsiones inducidas por GMS i.p. a dosis de 4.5 mg/g fueron observadas solamente en los animales del grupo MAIZ (tabla 2).

	Latencia a movimientos estereotipados (min)			Latencia a convulsiones (min)		
GMS (mg/g)	CTRL	HIP	MAIZ	CTRL	HIP	MAIZ
4.0	----	----	----	----	----	----
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
4.5	----	----	28.7 $\pm$ 2.5	----	----	50.6 $\pm$ 5.2
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
4.8	27 $\pm$ 5.2	26.4 $\pm$ 2.2	27 $\pm$ 3.2	53.5 $\pm$ 4.1	45 $\pm$ 6.9*	62.3 $\pm$ 3.7*
	(7)	(5)	(5)	(7)	(5)	(5) **
5.0	25.7 $\pm$ 2.2	25.2 $\pm$ 2.0	17 $\pm$ 3.3*	60.2 $\pm$ 9.1	47.6 $\pm$ 5.2*	47.4 $\pm$ 5.6*
	(5)	(5)	(5) **	(5)	(5)	(5)
5.2	21.3 $\pm$ 2.7	20.2 $\pm$ 1.8	16.5 $\pm$ 2.6*	63.8 $\pm$ 7	49.2 $\pm$ 7.0*	41.2 $\pm$ 7.5*
	(7)	(5)	(5) **	(7)	(5)	(5)
5.5	19.3 $\pm$ 3.2	13.3 $\pm$ 4.5	10.3 $\pm$ 2.5*	41.4 $\pm$ 6.8	30.6 $\pm$ 3.5	30.7 $\pm$ 9.4
	(5)	(5)	(5) **	(5)	(5)	(5)

Los datos representan los valores promedio $\pm$ error estándar.

Los números en paréntesis representan el número de animales por grupo a las diferentes dosis de GMS empleadas.

* = Significativamente diferente de los valores del grupo CTRL a $p<0.05$.

** = Significativamente diferente de los valores del grupo HIP a $p<0.05$.

GMS = glutamato monosódico; CTRL = grupo control; HIP = grupo alimentado con dieta hipoprotéica; MAIZ = grupo alimentado con dieta a base de maíz.

Tabla 2. Efecto de una dieta a base de maíz sobre los periodos de latencia a movimientos estereotipados y a convulsiones, inducidos por varias dosis de glutamato monosódico inyectadas a ratas adultas.

Latencia a movimientos estereotipados

Se consideró este periodo como el tiempo que transcurrió desde la inyección del GMS, a la aparición de manifestaciones motoras automáticas no dirigidas típicas de la especie, tales como movimientos de mordida o de acicalamiento de la cara. Durante este

periodo, los animales se observaron quietos, ligeramente somnolientos y que tenían una pobre respuesta a los sonidos acústicos ambientales.

La latencia a movimientos estereotipados disminuyó progresivamente al incrementar las dosis de GMS desde 4.8 a 5.5 mg/g en los animales del grupo CTRL. No se observaron diferencias significativas en este parámetro entre los datos registrados del grupo HIP comparando éstos con aquellos vistos en el grupo CTRL a todas las dosis de GMS administradas (tabla 2). Sin embargo, en el grupo MAIZ se observó una reducción estadísticamente significativa de este periodo, de manera progresiva, cuando se inyectó el GMS i.p. a dosis de 5.0, 5.2 y 5.5. mg/g (tabla 2).

Latencia a convulsiones

Este periodo se consideró como el tiempo transcurrido desde la inyección de GMS hasta que se observó el primer episodio convulsivo, lo cual varió en cada grupo a las diferentes dosis de GMS empleadas. Así, se observaron diferencias significativas cuando los valores del grupo HIP y del grupo MAIZ se compararon con aquellos valores obtenidos de los animales del grupo CTRL (tabla 2). Ocasionalmente se observaron algunos movimientos laterales y de flexoextensión de la cabeza e hiperactividad motora unos segundos antes del primer episodio convulsivo de los animales de todos los grupos.

Duración del periodo convulsivo

Se consideró como periodo convulsivo, el tiempo que transcurrió entre el primero y último episodios convulsivos. El tiempo promedio en el grupo CTRL a bajas dosis de GMS fue 60 minutos, que aumentó cuando se inyectó el GMS a dosis de 5.0 y 5.2 mg/g (tabla 3). Similarmente, los animales del grupo HIP mostraron un periodo convulsivo de 64 minutos cuando se inyectó el GMS i.p. a dosis de 4.8 mg/g, que aumentó a dosis más elevadas y disminuyó a dosis de 5.5 mg/g (tabla 3). Como los animales del grupo MAIZ presentaron convulsiones con una dosis de GMS tan baja como 4.5 mg/g, la duración de este periodo varió entre 70 y 85 minutos que disminuyó drásticamente a dosis más elevadas de GMS debido a la severidad de las convulsiones y muerte de los animales (tablas 3 y 4).

Frecuencia de las convulsiones

La actividad convulsiva en todos los grupos se

caracterizó por convulsiones tónico-clónicas durante 2 a 4 minutos con periodos interictales de 2 a 5 minutos de duración, en los que se apreciaron, en ocasiones, movimientos estereotipados y respuestas vegetativas (sialorrea, micción y piloerección).

GMS (mg/g)	Duración del periodo convulsivo (minutos)			Frecuencia de convulsiones (episodios/hora)		
	CTRL	HIP	MAIZ	CTRL	HIP	MAIZ
4.0	---	---	---	---	---	---
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
4.5	---	---	74.2 6.3 (5)	---	---	5.1 2.0 (5)
	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)
4.8	60.1 5.7 (7)	64.0 3.2 (5)	67.1 6.5 (5)	10.8 2.1 (7)	7.2 1.8 (5)	5.0 3.2* (5)
5.0	70.5 5.8 (5)	80.2 3.5* (5)	79.3 9.9 (5)	20.0 3.1 (5)	15.0 5.1 (5)	7.3 2.5* (5)
5.2	75.8 7.2 (7)	87.6 4.5* (5)	88.4 9.4* (5)	23.3 5.1 (7)	11 4.6* (5)	7.5 2.0* (5)
5.5	72.3 6.9 (5)	70.8 5.4 (5)	40.5 5.1* (5) **	16.7 4.8 (5)	8.5 4.8* (5)	6.0 2.1* (5)

Los datos representan los valores promedio $\pm$ error estándar.

Los números en paréntesis representan el número de animales por grupo a las diferentes dosis de GMS empleadas.

* = Significativamente diferente de los valores del grupo CTRL a $p < 0.05$.

** = Significativamente diferente de los valores del grupo HIP a $p < 0.05$.

GMS = glutamate monosódico; CTRL = grupo control; HIP = grupo alimentado con dieta hipoprotéica; MAIZ = grupo alimentado con dieta a base de maíz.

Tabla 3. Efecto de una dieta a base de maíz sobre la duración del periodo convulsivo y la frecuencia de convulsiones, inducidas por varias dosis de glutamato monosódico inyectadas a ratas adultas.

Se registraron de 10 a 23 episodios convulsivos por hora en los animales del grupo CTRL a dosis de GMS entre 4.8 y 5.2 mg/g, los cuales se redujeron a 16 episodios por hora a las dosis más altas de GMS empleadas, debido a la severidad de los episodios y a la muerte de los animales (tablas 3 y 4). La frecuencia mas corta de episodios convulsivos se registró en los animales del grupo MAIZ, con relación estrecha con la severidad del periodo convulsivo y la muerte de los animales, con diferencias estadísticamente significativas al comparar los valores de este grupo con aquellos del grupo HIP a las dosis de GMS empleadas (tablas 3 y 4).

Severidad del periodo convulsivo

En relación con la escala de registro para las convulsiones, se puso especial atención para distinguir con claridad un grado de otro, en particular entre los grados 2 a 4.

Grupos	Dosis (mg/g)	Grados				Moderado (Grados 1 + 2)	Severo (Grados 3 + 4)
		1	2	3	4		
CTRL	4.0 (5)	---	---	---	---	---	---
	4.5 (5)	---	1	---	---	1 (20%)	---
	4.8 (7)	---	4	1	---	4 (56%)	1 (14%)
	5.0 (5)	---	1	2	---	1 (20%)	2 (40%)
	5.2 (7)	---	1	2	4	1 (14%)	6 (86%)
	5.5 (5)	---	---	1	4	---	5 (100%)
HIP	4.0 (5)	---	---	---	---	---	---
	4.5 (5)	---	---	---	---	---	---
	4.8 (5)	---	3	2	---	3 (60%)	2 (40%)
	5.0 (5)	---	---	2	3	---	5 (100%)
	5.2 (5)	---	---	1	4	---	5 (100%)
	5.5 (5)	---	---	1	4	---	5 (100%)
MAIZ	4.0 (5)	---	---	---	---	---	---
	4.5 (5)	---	2	3	---	2 (40%)	3 (60%)
	4.8 (5)	---	1	4	---	1 (20%)	4 (80%)
	5.0 (5)	---	---	1	4	---	5 (100%)
	5.2 (5)	---	---	---	5	---	5 (100%)
	5.5 (5)	---	---	---	5	---	5 (100%)

Las cifras representan el número de animales agrupados en grados del periodo convulsivo y su severidad (moderado = 1 + 2 grados; severo = 3 + 4 grados).

Los números entre paréntesis en la columna de las dosis, representan el número de animales por grupo, a las diferentes dosis de GMS empleadas.

El porcentaje de animales correspondientes a periodos convulsivos moderados y severos, inducidos por las diferentes dosis de GMS, en cada grupo, aparece entre paréntesis.

GMS = glutamate monosódico; CTRL = grupo control; HIP = grupo alimentado con dieta hipoprotéica; MAIZ = grupo alimentado con dieta a base de maíz.

Tabla 4. Efecto de una dieta a base de maíz sobre la severidad del periodo convulsivo, inducido por varias dosis de glutamato monosódico inyectadas a ratas adultas.

La tabla 4 muestra la distribución de datos por grupo de acuerdo con la severidad del periodo convulsivo a las diferentes dosis de GMS utilizadas para los animales de los 3 grupos de dieta. El agrupar los grados 1 y 2 como moderados y los grados 3 y 4 como severos, permitió ver con claridad las diferencias en respuesta entre los grupos estudiados a las diferentes dosis de GMS utilizadas. Los animales de todos los grupos que alcanzaron un grado 4 de severidad del periodo convulsivo murieron en *status epilepticus*; ésto fue en una convulsión tónica con hiperextensión de cabeza, miembros y cola, con un aspecto cianótico, sin recuperación.

Uno de 5 y 2 de 5 ratas de los grupos CTRL e HIP, respectivamente, mostraron episodios convulsivos severos con una inyección de GMS a dosis de 4.8 mg/g, mientras que 3 de 5 ratas inyectadas con 4.5 mg/g y 4 de 5 animales inyectados con 4.8 mg/g del grupo MAIZ mostraron periodos convulsivos severos. El grado más alto de severidad del periodo convulsivo se registró en animales del grupo MAIZ, cuando los datos obtenidos con una dosis de GMS de 5.0 mg/g y dosis mas elevadas, fueron comparados con los valores correspondientes obtenidos de los grupos CTRL e HIP (tabla 4 y figura 2).

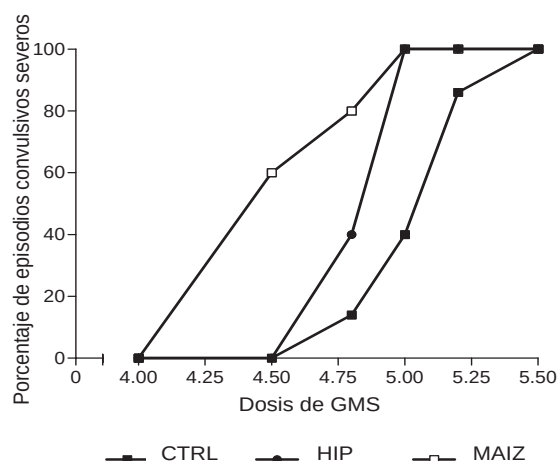


Figura 2. Representación gráfica de la proporción de severidad del periodo convulsivo a las diferentes dosis de GMS inyectadas i.p. a las ratas correspondientes a los grupos control (CTRL), hipoprotéico (HIP) y maíz (MAIZ). Se aprecia un aumento de la susceptibilidad a las convulsiones en los animales alimentados con la dieta a base de maíz. El eje de las ordenadas indica el porcentaje de los episodios convulsivos considerados como severos (grados 3 y 4).

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluaron los efectos de una dieta a base de maíz sobre el patrón y severidad del fenómeno convulsivo inducido por diferentes dosis de GMS en un modelo experimental bien establecido de *status epilepticus* en ratas adultas^{12,14,15,17}. Esto, con base en comunicaciones previas que han mostrado que una baja concentración de TRI en una dieta a base de maíz administrada a ratas sanas antes del apareamiento, durante la preñez, periodos de lactancia y destete están asociados con una reducción en la síntesis de 5-HT cerebral en los productos, que son alimentados con el mismo tipo de dieta hasta que han alcanzado 60 días de edad posnatal^{4,10}.

Es importante hacer notar que las diferencias significativas en el peso corporal entre los productos de los 3 grupos estudiados se pueden explicar, no solamente en términos de la restricción de proteínas en los grupos HIP y MAIZ, sino que en particular al bajo contenido de TRI en la dieta a base de maíz. A este respecto, entre otros papeles metabólicos, el TRI estimula la síntesis de proteínas en el hígado²⁴ y participa en la secreción de la hormona de crecimiento^{25,26}. Así, su restricción en la dieta explica en parte, las diferencias observadas en la ganancia de peso entre los grupos estudiados. Resultados semejantes en la ganancia de peso se han comunicado en otros estudios realizados en ratas alimentadas con una dieta restringida en TRI desde el destete²⁷.

El papel trófico de la 5-HT durante el desarrollo del SNC es bien conocido²⁸⁻³⁰. En las etapas prenatales y posnatal inmediata, la 5-HT contribuye a la integración y diferenciación de los sistemas de diferentes sistemas de neurotransmisores, en especial aquellos eventos relacionados con la proliferación y la sinaptogénesis. Lo anterior tiene un efecto sobre la maduración de los sistemas inhibitorios de la neurotransmisión, de manera que cuando existe una interferencia sobre el metabolismo de la 5-HT, ocurre un desbalance entre la excitación y la inhibición neuronal. Cuando disminuyen los impulsos inhibitorios, se observa un aumento en la sensibilidad a agentes epileptógenos con un incremento en la susceptibilidad a convulsiones³¹. Esto se correlaciona con datos obtenidos de estudios inmunohistoquímicos en nuestro laboratorio con el empleo de un modelo de desnutrición crónica idéntico al empleado en el presente trabajo y que muestra una disminución significativa en las neuronas GABAérgicas de corteza cerebral en los productos de las ratas^{7,8}. A este respecto, se conoce bien que el ácido gamma aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibitorio en el SNC y que la interferencia con la inhibición es un factor crucial para la hiperexcitabilidad neuronal asociada con convulsiones^{32,33}. Esto se hace evidente en el presente trabajo al notar que los animales alimentados con dieta a base de maíz, claramente mostraron una mayor susceptibilidad a las convulsiones que los que se alimentaron con dieta normal *Chow* Purina.

Ya que en el presente estudio se empleó una dieta a base de maíz, que es una dieta isocalórica y que contiene una baja proporción de proteína (8%)^{4,6}, se incluyó un grupo de animales alimentados con una dieta hipoprotéica como grupo control apareado a la proporción de proteínas presentes en la dieta a base de maíz. Esto, junto con las diferencias en el contenido de TRI en el grupo HIP (un tercio del contenido del TRI de la dieta *Chow* Purina), explica las diferencias en los resultados ya que este grupo de animales mostró una mayor susceptibilidad a las convulsiones inducidas por GMS que los animales del grupo CTRL. Sin embargo, las diferencias observadas en términos de susceptibilidad a las convulsiones inducidas por GMS entre los animales del grupo MAIZ y el grupo HIP parecen estar directamente relacionadas a las diferencias en el contenido de TRI en ambas dietas (la dieta HIP contiene el doble de TRI comparado con los datos de la dieta de maíz) los animales de los grupos MAIZ e HIP presentaron una mayor susceptibilidad a las convulsiones inducidas por GMS que los animales del grupo CTRL que fueron alimentados con una dieta

normal *Chow* Purina que contiene 23% de proteínas y cerca de 5 veces la cantidad de TRI que el contenido en la dieta a base de maíz. Pero, el efecto fue mucho mayor en las ratas del grupo MAIZ que se puso en evidencia por un periodo de latencia más corto a movimientos estereotipados y a convulsiones, así como por la severidad del periodo convulsivo. Con una dosis de 5.5 mg/g de GMS, la duración del periodo convulsivo significativamente disminuyó en los animales del grupo CTRL comparados con los grupos HIP y MAIZ. La mayor susceptibilidad a las convulsiones inducidas por GMS pueden estar asociadas con una reducción del periodo convulsivo debido a que los animales murieron en periodos más cortos de tiempo que los animales menos susceptibles. De manera similar, la frecuencia de los episodios convulsivos progresivamente se redujo en ratas de los grupos CTRL, HIP y MAIZ de manera progresiva (tabla 3), debido a que los eventos fueron más severos con episodios convulsivos más largos.

Las soluciones de GMS y las eqNaCl fueron hipertónicas. Sin embargo, los signos de hiperexcitabilidad y convulsiones se observaron sólo con la administración de GMS. Como ha sido discutido en estudios previos,^{12,13,34,35} esto sugiere que la solución hiperosmolar causa la apertura de la BHE y el influjo de cantidades aumentadas de Glu al parénquima cerebral ejerce un efecto excitatorio, dado por el Glu mismo^{15,20}. Este mecanismo quizás involucra elementos o estructuras del sistema límbico^{36,37}. Este efecto de GMS fue mucho mayor y más fuerte conforme aumentó la dosis de GMS; las ratas alimentadas con una dieta a base de maíz fueron más susceptibles a este efecto que aquellas de los grupos HIP y CTRL.

Las alteraciones cerebrales experimentalmente producidas en condiciones de desnutrición están relacionadas con la duración de este proceso de restricción de nutrientes, a las características de la dieta y a la etapa del desarrollo cerebral en que se establece la desnutrición^{38,39}. Debido a estas variables, los resultados difieren de forma sustancial de un modelo de desnutrición a otro. No obstante, los investigadores en general concluyen que los trastornos cerebrales provocados por los diferentes modelos de desnutrición son quizás, irreversibles^{2,40}. En el presente trabajo, los animales se expusieron a condiciones de desnutrición crónica con restricción de proteínas y TRI durante la etapa prenatal y posnatal inmediata que son periodos críticos de desarrollo del SNC^{4,41,42}.

Estos resultados apoyan la teoría que seres humanos con desnutrición crónica pueden tener algún daño cerebral, en particular relacionados con los sis-

temas de regulación de la excitabilidad cerebral, lo que hace que los sujetos sean más susceptibles a alguna forma de epilepsia convulsiva o no convulsiva^{13,43,44}.

El modelo de desnutrición empleado para el presente estudio pudirá representar de alguna forma, las condiciones de alimentación de una gran parte de la población humana en áreas rurales de países en vías de desarrollo, donde el maíz es el alimento básico y en algunos casos, la única fuente de nutrientes. No obstante, que existen comunicaciones acerca de la frecuencia y prevalencia de diferentes tipos de epilepsia relacionados con zonas rurales de bajos niveles socioeconómicos, se requiere de proyectos de investigación diseñados con estudios sistemáticos, tratando de correlacionar estos datos, con las condiciones de nutrición de esas áreas y con las características de los nutrientes en las respectivas dietas.

REFERENCIAS

- Bronzino JD, Austin-LaFrance RJ, Mokler D, Morgane PJ. Effects of prenatal protein malnutrition on hippocampal long-term potentiation in freely moving rats. *Exp Neurol* 1997; 148: 317-23.
- Morgane PJ, Austin-La France R, Bronzino J, Tonkiss J, Diaz-Cintra S, Cintra L, et al. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosci Biobehav Rev* 1993; 17: 91-128.
- Beas-Zárate C, Del Angel-Meza AR, Morales-Villagrán A, Feria-Velasco A. Serotonin uptake in the central nervous system of rats fed corn-diet. *Comp Biochem Physiol* 1988; 89: 173-7.
- Del Angel AR, Beas-Zárate C, Morales A. Effects of corn fed and protein restriction on rat cerebellum and brain stem maturation. *Nutr Rep Int* 1989; 40: 1192-1206.
- Fernstrom JD. Effect of the diet and other metabolic phenomena on brain tryptophan uptake and serotonin synthesis. *Ann Rev Med* 1981; 23: 413-25.
- Fernstrom JD, Hirsch MJ. Brain serotonin synthesis: reduction in corn-malnourished rats. *J Neurochem* 1977; 28: 877-9.
- Orozco-Suárez S, Feria-Velasco A, Del Angel-Meza AR. Effects of corn-feeding and protein restriction on development of GABAergic cells of the cerebral cortex in rats. Histological and immunocytochemical studies. *Soc Neurosci Abstr* 1995; 21: 2015.
- Orozco-Suárez S. Efecto de la restricción de triptófano en la dieta sobre el desarrollo de la innervación GABAérgica de la corteza somatosensorial de la rata. *Estudio inmunocitoquímico*. Ms Sci Thesis, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1997.
- Orozco-Suárez S, Del Angel AR, Beas-Zárate C, Manjares G, Feria-Velasco A. Corn feeding during development induces changes in the number of serotonergic neurons in the raphe nuclei. *Int J Dev Neurosci* 2003; 21: 13-22.
- Del Angel-Meza AR, Ramírez-Cortés L, Olvera-Cortés E, Pérez-Vega MI, González-Burgos I. A tryptophan-deficient corn-based diet induces plastic responses in cerebellar cortex cells of rat offspring. *Int J Dev Neurosci* 2001; 19: 447-53.
- Liptakova S, Velisek L, Veliskova J, Moshe SL. Effect of ganaxolone on fluorothyl seizures in developing rats. *Epilepsia* 2000; 41: 788-93.
- Arauz-Contreras J, Feria-Velasco A. Monosodium-L-glutamate-induced convulsions-I. Differences in seizure pattern and duration of effects as a function of age in rats. *Gen Pharmacol* 1984; 15: 391-5.
- Feria-Velasco A, Feria-Cuevas Y, Gutiérrez-Padilla R. Chronobiological variations in the convulsive effect of monosodium L-glutamate when administered to adult rats. *Arch Med Res* 1995; 26: supl 127-32.
- Johnston GAR. Convulsions induced in 10-day old rats by intraperitoneal injection of monosodium glutamate and related excitant amino acids. *Biochem Pharmacol* 1973; 22: 137-40.
- Nemeroff ChB, Crisley FD. Monosodium L-glutamate induced convulsions: temporary alterations on blood-brain barrier permeability to plasma proteins. *Environ Physiol Biochem* 1975; 5: 389-95.
- Nemeroff ChB, Grant LD, Bissette G, Ervin GN, Harrell LE, Prange AJ. Growth, endocrinological and behavioral deficits after monosodium-l-glutamate in the neonatal rat. *Psychoendocrinol* 1977; 2: 179-96.
- Stewart C, Coursin DB, Bhagavan HN. 1972. Electroencephalographic study of L-glutamate induced seizures in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1972; 23: 635-9.
- Weichert P, Göllnitz G. Stoffwechseluntersuchungen des cerebralen Anfallsgeschehens. Untersuchungen des Glutamatsstoffwechsels in verschiedenen Hirnarealen des Hundes im prakonvulsiven J. Zustand. *J Neurochem* 1970; 17: 137-47.
- Fonnum F. Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain. *J Neurochem* 1984; 42: 1-11.
- Torii K, Takasaki Y, Iwata S, Wurtman RJ. Changes in blood osmolarity electrolytes, and metabolites among adult rats treated with a neurotoxic dose of MSG. *Life Sci* 1981; 28: 2855-64.
- Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Título 7, Cap Único. En: Ley General de Salud. Leyes y Códigos de México. Tomo I. México, D.F. Editorial Porrúa; 2002.
- Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. U.S. Department of Health and Human Services. NIH Publication No 85.23 Revisado 1996.
- Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972; 32: 281-94.
- Pazos A, Cortés R, Palacios M. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. II. Serotonin-2 receptors. *Brain Res* 1985; 346: 231-49.
- Anderson I, Cowen P. Neuroendocrine response to L-tryptophan as an index of brain serotonin function: effect on weight loss. *Adv Exp Med Biol* 1991; 294: 245-54.
- Delgado PL, Charney DS, Price LH, Landis H, Heninger GR. Neuroendocrine and behavioral effects of dietary tryptophan restriction in healthy subjects. *Life Sci* 1989; 45: 2323-32.
- González-Burgos I, Pérez-Vega MI, Del Angel-Meza AR, Feria-Velasco A. Effect of tryptophan restriction on short-term memory. *Physiol Behav* 1998; 63: 165-9.
- Buznikov GA, Lambert HW, Lauder JM. Serotonin and serotonin-like substances as regulators of early embryogenesis and morphogenesis. *Cell Tis Res* 2001; 305: 177-86.
- Lauder JM. Neurotransmitters as morphogenes. *Progr Brain Res* 1988; 73: 365-87.
- Whitaker-Azmitia PM, Druse M, Walker P, Lauder JM. Serotonin as a developmental signal. *Behav Brain Res* 1996; 73: 19-29.
- Avanzini G, Giulio S, Canafoglia L, Franceschetti S. Maturation of cortical physiological properties relevant to epileptogenesis. En: Spreafico R, Avanzini G, Andermann F, eds. *Abnormal cortical development and epilepsy. From basic and clinical science*. Miami Foundation Paediatric Neurology Series, vol 7.

- London: John Libbey; 1999.
32. Ribak CE. Epilepsy and the cortex: anatomy. En: Peters A, Jones EG, eds. *Cerebral cortex, normal and altered states of function*. Vol 9. New York: Plenum; 1991.
 33. Jones EG. GABAergic neurons and their role in cortical plasticity in primates. *Cereb Cortex* 1993; 3: 361-72.
 34. Alfaro F, Blas O, Gutiérrez-Padilla R, Feria-Velasco A. Characterization of an experimental model of monosodium glutamate-induced convulsions in the amphibian *Bufo* spp. *Arch Invest Med (Mex)* 1990; 21: 405-11.
 35. Beas-Zárate C, Arauz-Contreras J, Velásquez A, Feria-Velasco A. Monosodium L-glutamate-induced convulsions. II.- Changes in catecholamine concentrations in various brain areas of adult rats. *Gen Pharmacol* 1985; 16: 489-93.
 36. Baram TZ, Ribak CE. Peptide-induced infant status epilepticus causes neuronal death and synaptic reorganization. *NeuroReport* 1995; 6: 277-80.
 37. Ribak CE, Baram TZ. Selective death of hippocampal CA3 pyramidal cells with mossy fiber afferents after CRH-induced status epilepticus in infant rats. *Dev Brain Res* 1996; 91: 245-51.
 38. Morgane PJ, Mokler DJ, Galler JR. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neurosci Biobehav Rev* 2002; 26: 471-83.
 39. Zamenhof S. Malnutrition and brain development. En: Lajtha A. ed. *Handbook of Neurochemistry*. Vol. 9. New York: Plenum Press; 1985. p. 151-72.
 40. Datta S, Patterson EH, Vincitore M, Tonkiss J, Morgane PJ, Galler JR. Prenatal protein malnourished rats show changes in sleep/wake behavior as adult. *J Sleep Res* 2000; 9: 71-9.
 41. Del Angel-Meza AR, Ramírez-Cortés L, Adame-González IG, González-Burgos I, Beas-Zárate C. Cerebral GABA release and GAD activity in protein- and tryptophan-restricted rats during development. *Int J Dev Neurosci* 2002; 20: 47-54.
 42. Lauder JM. Neurotransmitters as growth regulatory signals: role of receptors and second messengers. *Trends Neurosci* 1993;16: 233-40.
 43. Palencia G, Calvillo M, Sotelo J. Chronic malnutrition caused by a corn-based diet lowers the threshold for pentylenetetrazol-induced seizures in rats. *Epilepsia* 1996; 37: 583-6.
 44. Sánchez M, Jensen F. Maturation aspects of epilepsy mechanism and consequent the immature brain. *Epilepsia* 2001; 42: 577-85.