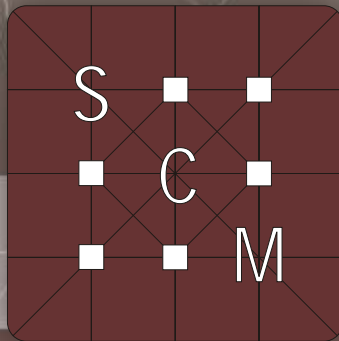


ISSN 1851-7862

Año 10, Vol. X, Nº 1



CIENCIAS MORFOLÓGICAS

Publicación periódica de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de la Plata

Junio 2008

CIENCIAS MORFOLÓGICAS

Revista de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata
Publicación periódica de trabajos científicos del área de la Morfología

EDITOR CIENTÍFICO

Dr. Claudio Barbeito. Universidad Nacional de La Plata. CONICET. Argentina.

COMITÉ DE POLÍTICA EDITORIAL

Dra. Graciela Navone. Universidad Nacional de La Plata. CONICET. Argentina.

Dr. Mario Restelli. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Dra. Susana Salceda. Universidad Nacional de La Plata. CIC. Argentina.

PhD Gustavo Zuccolilli. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

CONSEJO CIENTÍFICO EDITORIAL

Dra. María del Carmen Carda Batalla. Universidad de Valencia. España.

Dra. Ana Lía Errecalde. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

MSc Antonio Felipe. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Argentina.

Dra. María Teresa Ferrero. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

MSc Stella Maris Galván. Universidad Nacional del Litoral. Argentina.

PhD Eduardo Gimeno. Universidad Nacional de La Plata. CONICET. Argentina.

Dra. María Elsa Gómez de Ferraris. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

Dra. Alda González. Universidad Nacional de La Plata. CONICET. Argentina.

PhD Ben Hanelt. Universidad de Nebraska. Estados Unidos.

Dr. Daniel Lombardo. Universidad Nacional de Buenos Aires. Argentina.

Dra. Inés Martín Lacave. Universidad de Sevilla. España.

Dra. Marta Graciela Méndez. Universidad Nacional de La Plata. CONICET. Argentina.

Dr. Hugo Ortega. Universidad Nacional del Litoral. CONICET. Argentina.

Dr. Martí Pomarola. Universidad Autónoma de Barcelona. España.

Dr. Enrique Portiansky. Universidad Nacional de La Plata. CONICET. Argentina.

Dra. Sara Sánchez. Universidad Nacional de Tucumán. CONICET. Argentina.

PhD Andreas Schmidt-Rhaesa. Bielefeld. Alemania.

Dr. Eduardo Tonni. Universidad Nacional de La Plata. CIC. Argentina.

Dra. Irene von Lawzewitzch. Universidad Nacional de Buenos Aires. CONICET. Argentina.

Dr. Mauricio Zamponi. Universidad Nacional de Mar del Plata. CONICET. Argentina.

EDITOR ASOCIADO

MSc Norma González. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Edición técnica y compaginación:

Méd. Vet. Pedro Fernando Andrés Laube. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Propiedad: Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata.

Sede: Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Argentina.

Distribución: Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata.

CIENCIAS MORFOLÓGICAS

Publicación periódica de la Sociedad de Ciencias Morfológicas de La Plata

Año 10, Vol. X, N° 1 - JUNIO 2008

ÍNDICE

TRABAJOS ORIGINALES

- Alcira Ofelia DÍAZ; Alicia Mabel GARCÍA; Clóvis PINHEIRO Junior; Fernanda BLAUTH DELIMA; María del Carmen BRACCINI; Antonio Carlos GALARÇA GUIMARÃES.
ANÁLISIS HISTOQUÍMICO DE LOS GLICOCONJUGADOS EN LAS CÉLULAS MUCOSAS DE LAS BRANQUIAS DE *Apareiodon affinis* (STEINDACHNER, 1879) (CHARACIFORMES, PARADONTIDAE) 1-8
- Andrea TANEVITCH; Susana BATISTA; Graciela DURSO; Adrián ABAL; Cristina ANSELMINO; Lila LICATA.
TIPOS DE ESMALTE Y SU RELACIÓN CON LA BIOMECÁNICA. 9-14

TRABAJO REEDITADO

- Marcelo Héctor CEREZO y Néstor LANARI.
ANATOMÍA QUIRÚRGICA Y APLICADA DEL DELANTAL DE LOS EPIPLONES. FUNDAMENTOS DE SUS USOS MEDICOQUIRÚRGICOS 15-21

TRABAJO DE TESIS

- María Florencia CESANI.
INFLUENCIA DE LA SUBNUTRICIÓN PROTEICO-CALÓRICA TRANSGENERACIONAL SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA DESCENDENCIA EN LA RATA (*Rattus norvegicus albinus* VAR. WISTAR). UN ESTUDIO DE ANTROPOLOGÍA BIOLÓGICA EXPERIMENTAL 23-27

PRESENTACIÓN

Como explicamos en una editorial anterior, diversas circunstancias nos decidieron a transformar la revista Ciencias Morfológicas en un medio con formato on-line. Sin dudas de esta manera se consigue una distribución mucho más amplia de la publicación. La posibilidad de lograr una mayor difusión nos llevó a reflexionar sobre la posibilidad de pensar en publicar nuevamente algunos artículos que habían aparecido en la primera época de la revista y que podían quedar olvidados por las limitaciones de la distribución en el formato original. Para cumplir con este objetivo, realizamos una selección de artículos que consideramos que no habían perdido vigencia y seguían siendo de interés para nuestra área de conocimiento. Tras ser revisados y corregidos por los autores, adaptamos estos artículos al nuevo formato de Ciencias Morfológicas. En el presente número iniciamos esta serie de reediciones con el trabajo: Anatomía quirúrgica y aplicada del delantal de los epiplones. Fundamentos de sus usos medicoquirúrgicos de Marcelo Héctor Cerezo y Néstor Lanari. Por otra parte, continuamos con la presentación de trabajos originales que abarcan en este caso áreas tan distintas como la morfología de organismos acuáticos y la del esmalte dentario humano, con ello reafirmamos la idea madre de esta revista que es apoyar el estudio de las ciencias morfológicas en todas sus variantes. Por último, proseguimos con la publicación de resúmenes de tesis doctorales que consideramos de fundamental importancia para que se puedan conocer las áreas en las que trabajan distintos investigadores. Esperamos que este número sea del agrado de nuestros lectores.

Los editores

HISTOCHEMICAL ANALYSIS OF GLYCOCONJUGATES IN THE
BRANCHIAL MUCOUS CELLS OF *Apareiodon affinis* (STEINDACHNER,
1879) (CHARACIFORMES, PARADONTIDAE)

ANÁLISIS HISTOQUÍMICO DE LOS GLICOCONJUGADOS EN LAS
CÉLULAS MUCOSAS DE LAS BRANQUIAS DE *Apareiodon affinis*
(STEINDACHNER, 1879) (CHARACIFORMES, PARADONTIDAE)

Alcira Ofelia DÍAZ ¹; Alicia Mabel GARCÍA¹; Clóvis PINHEIRO Junior²; Fernanda BLAUTH DE LIMA²; María del Carmen BRACCINI²; Antonio Carlos GALARÇA GUIMARÃES²

1. Laboratorio de Histología e Histoquímica, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. Funes 3250 3° piso (B7602AY) Mar del Plata, Argentina.

2. Laboratorio de Histología y Embriología, Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Campus Uruguaiana, Uruguaiana, Brasil.

Correspondence to: Díaz Alcira Ofelia. Laboratorio de Histología e Histoquímica. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. Funes 3250 3° piso (B7602AY) Mar del Plata. ARGENTINA. Phone: +54 223 475 3554; fax: +54 223 475 3150.

E-mail: adiaz@mdp.edu.ar

ABSTRACT. The histochemical characteristics of the mucous cells located in the gills of the fish *Apareiodon affinis* (Steindachner, 1879) (Characiformes, Paradontidae) were investigated. Several methods for the localization and characterization of glycoconjugates (GCs) with oxidizable vicinal diols, O -acyl sugars, O- sulphate esters and sialic acids residues without O-acyl substitution or with O-acyl substitution at C7, C8 or C9 were employed. Mucous cells were observed among the epithelial cells of the filament and the gill lamellae. No histochemical differences were detected between the mucous cells of primary and secondary lamellae. They contained high amounts of GCs with carboxyl groups and O-sulphate esters, together with moderate amounts of GCs with oxidizable vicinal diols, and low amounts of GCs with sialic acids. This work demonstrated the heterogeneity of the mucous cells GCs, which could be associated with different functions such as lubrication, protection and inhibition of the invasion and proliferation of pathogenic microorganisms and ionic regulation.

Key words: gills, glycoconjugates, histochemistry, mucous cells, teleost fish.

RESUMEN. Las características histoquímicas de las células mucosas de las branquias de *Apareiodon affinis* (Steindachner, 1879) (Characiformes, Paradontidae) fueron investigadas. Se utilizaron métodos para la localización y caracterización de glicoconjugados (GCs) con dioles vecinos oxidables, O-acil azúcares, ésteres orto-sulfatados y residuos de ácidos siálicos sin sustitución o con sustitución O-acilo en C7, C8 y/o C9. Se observaron células mucosas entre las células epiteliales del filamento y las laminillas secundarias. No se encontraron diferencias histoquímicas entre las células mucosas de las laminillas primarias y secundarias. Ellas poseen abundantes GCs con grupos carboxílicos y ésteres O-sulfatados, junto con moderada proporción de GCs con dioles vecinos oxidables y baja cantidad de GCs con ácido siálico. Este trabajo demostró la heterogeneidad de los GCs de las células mucosas que podría asociarse con funciones diferentes como la lubricación, protección e inhibición de la invasión y proliferación de microorganismos patógenos y la regulación iónica.

Palabras clave: branquias, glicoconjugados, histoquímica, células mucosas, peces teleosteos.

Recibido marzo 10, 2008 - Aceptado abril 25, 2008

INTRODUCTION

The glycoconjugates (GCs) constitute the major component of the vertebrate mucosubstances. They are known to have a large variety of functions, from antimicrobial and antiviral to osmotic functions (1, 7, 8, 9). In fishes, mucosubstances also have an important role in ion regulation and diffusion (10).

The presence of mucous cells is a common character of teleost fish. Fish mucous cells elaborate and release different secretory components, mainly GCs. Mucous cells and the mucous composition they produce are influenced by the physicochemical conditions of the environment and its variations (5, 10).

The characid *Apareiodon affinis* (Steindachner, 1879) is a teleost belonging to the family Parodontidae, and it is geographically distributed by the rivers Paraguay, Paraná Medio and Bajo, Uruguay Medio and Bajo, and de la Plata, and western Brazil. It inhabits the muddy depths where it feeds on detritus (35). *A. affinis* is popularly known as “duro-duro”, “canivete” or “charuto” in Brazil and as “virolitos”, “piki” or other names in the rest of the Latin American countries where they occur (25). Variations in the chemical compounds present in all river water columns can alter the morphology and secretion of the gill mucous cells of fish (16). In this way, they are a useful model for studies on environmental impact (19).

The purpose of this study was to analyze the composition of carbohydrates in the mucous cells of the gills of *A. affinis* from the hydrographic basin of the River Uruguay Medio, in Uruguiana, Rio Grande do Sul, Brazil.

This study will provide a more profound knowledge about the histochemical features of the mucous cells of *A. affinis*, and it represents the foundation upon which morphological comparisons at different environmental situations will be possible.

MATERIALS AND METHODS

Animals

Adult *A. affinis* specimens of both sexes were collected in São Marcos District, locality of Cantão, at the hydrographical basin of River Uruguay Medio, (“29° 30' 20.4” S / 56° 50' 41.9” W), in the Uruguiana Comune, Rio Grande do Sul, Brazil (Fig. 1).



Fig. 1. Female specimen of *A. affinis* collected in São Marcos District.

Collections were done in the winter-spring 2005 and summer 2006 periods. Specimens were adults of both sexes. After collection the specimens were weighed and measured in site (13.3 ± 1.21 cm length; 23.5 ± 6.8 g weight). The gills were rapidly excised and fixed by immersion in 10% buffered formalin for light microscope studies.

Histological processing

Samples were routinely processed and embedded in paraffin. Four micrometer-thick histological sections were cut by microtome, prepared according to standard protocol and then stained using the following techniques: routine hematoxylin and eosin (H-E) stain, Masson trichrome stain for morphology and Mayer mucicarmine for mucin identification.

Histochemical processing

Sections of tissue were also treated with histochemical procedures to identify and differentiate GCs (Table 1). Sections were stained with: 1) PAS (periodic acid Schiff's reagent) to demonstrate periodate reactive vicinal diols; 2) the acetylation before PAS technique to block the oxidation of the 1,2 glycol groups by the periodic acid; 3) the acetylation - saponification - PAS sequence to restore the 1,2 glycol groups which reacts with the periodic acid ; 4) -amylase

digestion before PAS reaction for a control of the presence of GCs with oxidizable vicinal diols; 5) PA*S (selective periodic acid Schiff reaction): oxidation for 1 h at 4°C with 0.4 mM periodic acid in approximately 1 M hydrochloric acid is used as a specific reagent for the selective visualization of sialic acids in the PAS procedure. The selectivity of the reaction is the result of an increase in the rate of the oxidation of the sialic acid residues together with a decrease in the rate of oxidation of neutral sugars; 6) KOH/PA*S (saponification-selective periodic acid Schiff reaction) to allow the characterization of total sialic acids. The saponification with 0.5% potassium hydroxide in 70% ethanol for 30 min at room temperature was performed to deacetylate sialic acid residues and was followed by PA*S; 7) KOH/PA*/Bh/PAS (saponification-selective periodic acid-borohydride reduction-periodic acid Schiff

reaction) for the characterization of neutral sugars; 8) PA/Bh/KOH/PAS (periodic acid-borohydride reduction-saponification-periodic acid Schiff reaction): this method was carried out using a 2 h oxidation at room temperature with 1% periodic acid. The aldehydes generated by the initial oxidation were reduced to Schiff-unreactive primary alcohols with sodium borohydride (PA-Bh). Following saponification (KOH), sialic acids with O-acyl substituents at C7, C8 or C9 (or which had two or three side-chains O-acyl substituents) and O-acyl sugars are PAS positive; 9) AB pH 2.5 (Alcian Blue 8GX pH 2.5): to demonstrate GCs with carboxyl groups (sialic acid or uronic acid) and/or with O-sulphate esters; 10) AB pH 1.0 and pH 0.5 (Alcian Blue 8GX pH 1.0 and pH 0.5) to demonstrate GCs with O-sulphate esters and very sulphated GCs respectively.

Procedures	Interpretation of staining reactions	References
PAS	GCs with oxidizable vicinal diols and/or glycogen	McManus (1948)
Acetylation-PAS	GCs with oxidizable vicinal diols and/or glycogen	Lillie & Fullmer (1976)
Acetylation-Saponification-PAS	GCs with oxidizable vicinal diols and/or Glycogen	Lillie & Fullmer (1976)
-amylase-PAS	GCs with oxidizable vicinal diols	Pearse, 1985
PA*S	Sialic acid and some of their chain variants (C7 and/or C9)	Volz <i>et al.</i> (1987)
KOH/PA*S	GCs with sialic acid residues	Culling <i>et al.</i> (1976)
KOH/PA*/Bh/PAS	Neutral GCs with oxidizable vicinal diols	Volz <i>et al.</i> (1987)
PA/Bh/KOH/PAS	Sialic acid residues with O-acyl substitution at C7, C8 or C9 and O-acyl sugars	Reid <i>et al.</i> (1973)
AB pH 2.5	GCs with carboxyl groups (sialic acid or uronic acid) and/or with O-sulphate esters	Lev & Spicer (1964)
AB pH 1.0	GCs with O-sulphate esters	Lev & Spicer (1964)
AB pH 0.5	Very sulphated GCs	Lev & Spicer (1964)

Table 1. Histochemical reactions for carbohydrate moieties in mucous cells of *A. affinis* gills.

RESULTS

The gill arch structure of *A. affinis* is similar to that of other teleosts. Two epithelial types are clearly identified in the gills of *A. affinis*: primary or filamentary and secondary or lamellar. The former is stratified with epithelial cells, mitochondria-rich cells and mucous cells spread among them; the latter is a two-cell-epithelium morphologically adapted to gas exchange.

Mucous cells are detected among the epithelial cells of the primary and secondary gill lamellae. They appear depressed in the surface of the epithelial cells which cover them almost completely. Mucous cells are large, with abundant secretion granules that displace the nucleus to the basal margin of the cells. Mucus discharge is performed by exocytosis. Hematoxylin-eosin or trichrome colored preparations showed no color in the mucous cell content.

The histochemical procedures for visualizing and identifying GCs in the mucous cells of primary and secondary lamellae are summarized in Table 2.

Procedures	Reaction shades
PAS	2M
Acetylation-PAS	0
Acetylation-Saponification-PAS	2M
-amylase- PAS	2M
PA*S	1-2M
KOH/PA*S	1-2M
KOH/PA*/Bh/PAS	2M
PA/Bh/KOH/PAS	3M
AB pH 2.5	3T
AB pH 1.0	2-3T
AB pH 0.5	2-3T

Table 2. Histochemical staining properties of GCs in mucous cells of *A. affinis* gills (M, magenta; T, turquoise. Staining intensity: 0, negative; 1, weak; 2, moderate; 3, strong)

No histochemical differences were detected between the mucous cells of primary and

secondary lamellae. Analyses of reactions which combined histochemical methods and their respective controls indicated that a single type of mucous cell appeared. The mucous cell contained high amounts of GCs with carboxyl groups and O-sulphate esters, together with moderate amounts of GCs with oxidizable vicinal diols, and low amounts of GCs with sialic acids.

The reaction with the PAS method indicated that moderate amounts of GCs with oxidizable vicinal diols were present (Fig. 2). The coloration disappeared after acetylation and recovered after saponification confirming the presence of GCs with oxidizable vicinal diols. Control sections subjected to α -amylase were positive to the PAS reaction after this treatment, so they must have contained neutral hexoses. The mucous cells were weakly positive to PA*S and KOH/PA*S reaction, thus indicating that GCs with sialic acids and some of their chain variants were scanty (Figs. 3 and 4). Therefore the strong reaction with the PA/Bh/KOH/PAS method indicated mainly the presence of O-acyl sugars (Fig. 5). Neutral GCs with oxidizable vicinal diols were revealed using the KOH/PA*/Bh/PAS procedure (Fig. 6).

Sequences of reactions utilizing Alcian blue at different pH levels showed the presence of GCs with carboxylic and O-sulphate esters (weak and strongly ionized) (Figs. 7-9).

DISCUSSION

In histological terms, the gills of *A. affinis* are basically similar to that of other teleost fish (7, 8, 11, 13, 14). Thus, we described two types of epithelia in *A. affinis*: that of the filament and that of the respiratory lamellae. Mucous cells were present in both epithelia. They were located sunk among the epithelial cells of the filaments and the secondary lamellae that covered them almost completely, as classically described in other teleosts (2, 5, 7, 8).

Histochemical methods have proved to be valuable tools for localizing and characterizing

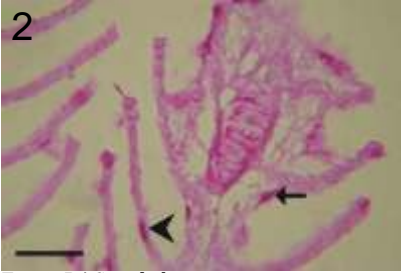


Fig. 2. PAS scale bar: 32 μ m.

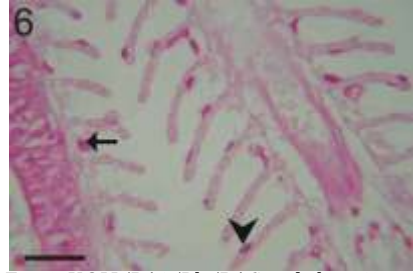


Fig. 6. KOH/PA*/Bh/PAS scale bar: 56 μ m



Fig. 3. PA*S scale bar: 28 μ m

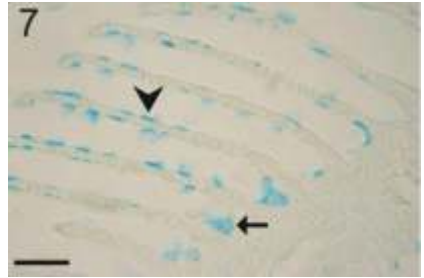


Fig. 7. AB pH 2.5 scale bar: 35 μ m.

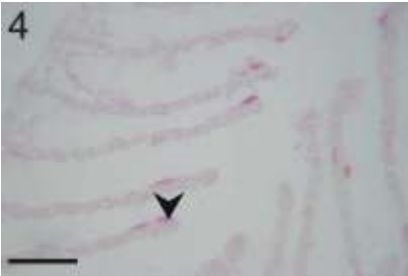


Fig. 4. KOH/PA*S scale bar: 40 μ m

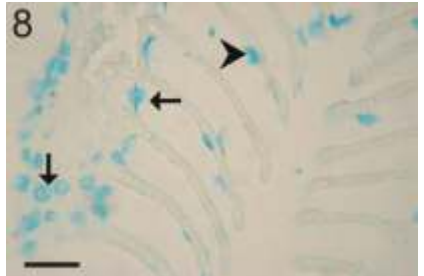


Fig. 8. AB pH 1.0 scale bar: 35 μ m.



Fig. 5. PA/Bh/ KOH/PAS scale bar: 56 μ m

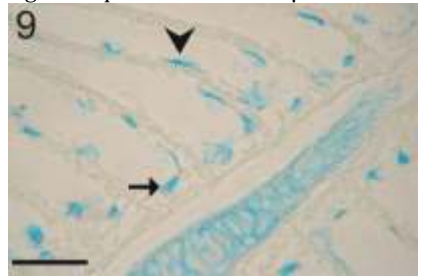


Fig. 9. AB pH 0.5 scale bar: 40 μ m.

gill cells (7, 8). The histochemical methods used allowed us to characterize the mucous cells. The main components of mucus are high molecular weight GCs with numerous carbohydrate chains O-glycosidically linked to a protein core (3).

The contents of mucous cells from the primary and secondary lamellae from the gills of *A. affinis* were mostly neutral GCs, carboxylated and sulphated GCs, and scarce GCs with sialic acids and some of their side chain variants.

The different types of GCs detected in the mucous cells proved a high level of histochemical complexity, related to the diverse functions that the mucosubstances display in freshwater fishes.

In the present study we have identified a single type of mucous cell in the gills of *A. affinis*. Mucous cells of *A. affinis* gills were generally similar to those described for the gills of *Odontesthes bonariensis* (6) and for the epithelium of the operculum of *Lepidocephalichthys guntea* (24).

As in *Solea senegalensis* (2, 30) and *Cynoscion guatucupa* (8) it was found that mucous cells of *A. affinis* gills secreted both neutral and acidic carboxylated GCs. These components were detected altogether in the same cell.

Acid GCs have been shown to coincide with increased mucus viscosity in the alimentary tract of fish (32), in air way epithelia of mammals (15) and in corals (21). The elaboration of sulphated GCs by mucous cells in *A. affinis* gills could be related to an increased viscosity of the mucus and to a lubrication of the surface of the fish gills. According to Mittal *et al.* (2002, 2004), the sulphated GCs could play a vital role in providing protection against mechanical damage to which these fishes are highly vulnerable because of their habitat, and also while moving. Furthermore, it has been postulated that sulphated GCs prevent the proliferation of pathogenic micro-organisms in freshwater fish which are more likely to become infected in this type of environment (22, 24, 27, 34). Thus, high amounts of sulphated GCs in the mucous cell

secretions of the gills of *A. affinis* may also assign a significant resistance against pathogens and it would protect the fish.

Tibbets (1997) has described neutral GCs as less viscous than the acid GCs elaborated by mucous cells in the alimentary tract of *Arrhamphus sclerolepis krefftii*. The histochemical composition of the mucous secretion in the mucous cell of *A. affinis* gills has also revealed the presence of neutral GCs. The neutral GCs would thus lower the viscosity of mucus in this region. According to Mittal *et al.* (2002, 2004) mucus with lower viscosity is considered to be fairly easy to wash away with the respiratory water current. This fact would facilitate the respiratory process.

According to the scheme proposed by Harrison *et al.* (1987), the biosynthesis of GCs includes modifications of the secretory protein, and different stainings can represent the different cell stages. The synthesis of mucin GCs includes at least two modifications of the secretory protein: glycosylation of the protein followed by modifications of the sugar moiety. As a result, PAS negative mucous cells initially contain only proteins. PAS positivity could be related to the production of glycoproteins. The Alcian blue staining coincides with the carboxylation stage, and the presence of sulphated glycoproteins with the conjugation with sulphated groups (2, 8).

Care must be taken with comparisons concerning histochemical analyses of fish because in some cases, identical species under different conditions have shown differences in the type of GCs produced (29). Moreover, in some freshwater fish (*Monopterusuchia* and *Pungitius pungitius*), the epidermal mucous cell sulphated proteins predominate in the mucus composition, whereas in marine fish (*Blennius tentacularis* and *B. sanguinolentus*), GCs with sialic acid prevail (34). Likewise, in the freshwater fish *O. bonariensis* (6), sulphated GCs predominate in their gills whereas in the gills of the marine fishes *Micropogonias furnieri* (5, 7) and *Cynoscion guatucupa* (8) many GCs with sialic acid are also found.

On the other hand, by means of histochemical techniques (29) four types of mucous cells in the branchial epithelium of the *Poecilia vivipara* were identified, and only one type is described in *Solea senegalensis* (2, 30). Then, the mucous cells of the gill epithelium of *A. affinis* synthesize different mucosubstances. The combination of GCs possibly enables the gills to respond quickly to changes in the environmental condition. The components of GCs found in the mucous cells of

A. affinis gills may be related to the gills having the general osmoregulatory role of regulating the transfer of ions and fluids.

Acknowledgements

This research was supported by a Grant from the University of Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

REFERENCES

- Allen A. (1981). Structure and functions of gastrointestinal mucus. In: Johnson L.R. (Ed.), Physiology of the gastrointestinal tract. Raven Press, New York. P.617-639.
- Arellano JM, Storch, V, Sarasquete C. (2004). Ultrastructural and histochemical study on gills and skin of the Senegal sole, *Solea senegalensis*. Journal of Applied Ichthyology; 20:452-460.
- Burkhardt-Holm P. (1997). Lectin histochemistry of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill and skin. Histochemical Journal; 29:893-899.
- Culling CFA, Reid PE, Dunn WL. (1976). A new histochemical method for the identification and visualization of both side-chain acylated and non-acylated sialic acids. Journal of Histochemistry and Cytochemistry; 24:1225-1230.
- Diaz AO, García AM, Devincenti CV, Goldemberg AL. (2001). Mucous cells in *Micropogonias furnieri* gills: histochemistry and ultrastructure. Anatomia Histologia Embryologia; 30:135-139.
- Diaz AO, García AM, Escalante AH, Goldemberg AL. (2004). Glycoconjugates in the gills of *Odontesthes bonariensis* (Teleostei, Atherinopsidae). Biocell; 28(2):241.
- Díaz AO, García AM, Devincenti CV, Goldemberg AL (2005a). Ultrastructure and histochemical study of glycoconjugates in the gills of the white croaker (*Micropogonias furnieri*). Anatomia Histologia Embryologia; 34:117-122.
- Diaz AO, García AM, Goldemberg AL. (2005b). Glycoconjugates in the branchial mucous cells of *Cynoscion guatucupa* (Cuvier, 1830) (Pisces: Sciaenidae). Scientia Marina; 69(4):545-553.
- Diaz AO, García AM, Goldemberg AL. (2008). Glycoconjugates in the mucosa of the digestive tract of *Cynoscion guatucupa*: A histochemical study. Acta Histochemica; 110: 76-85.
- Domenechini C, Pannelli Straini R, Veggetti A. (1998). Gut glycoconjugates in *Sparus aurata* L. (Pisces, Teleostei). A comparative histochemical study in larval and adult ages. Histology and Histopathology; 13: 359-372.
- Eiras-Stofella DR, Charvet-Almeida P, Fanta E, Casagrande Vianna AC. (2001). Surface ultrastructure of gills of the mullets *Mugil curema*, *M. liza* and *M. platanus* (Mugilidae, Pisces). Journal of Morphology; 247: 122-133.
- Harrison JD, Auger DW, Paterson KL, Rowley PSA. (1987). Mucin histochemistry of submandibular and parotid salivary glands of man: light and electron microscopy. The Histochemical Journal; 19: 555-564.
- Hossler FE, Harpole Jr. JH, King JA. (1986). The gill arch of the striped bass, *Morone saxatilis*. I. Surface ultrastructure. Journal of Submicroscopical Cytology; 18(3):519-528.
- Hughes GM. (1984). General anatomy of the gills. In: Hoar WS, Randall DJ (ed.) Fish Physiology. Orlando: Academic Press, pp1-72.
- Jones R. (1977). Modification of mucus animal models of disease. Advances in Experimental Medicine and Biology; 89: 397-412.
- Laurent P, Perry SF. (1991). Environmental effects on fish gill morphology. Physiological Zoology; 64 (1): 4-25.
- Lev R, Spicer SS. (1964). Specific staining of sulphate groups with alcian blue at low pH. Journal of Histochemistry and Cytochemistry; 12: 309.

18. Lillie RD, Fullmer HM. (1976). Chemical end groups. In: RD Lillie, Fullmer HM (eds) *Histopathologic Technique and Practical Histochemistry*. New York: Mc Graw-Hill, pp. 217-326.
19. Machado MR, Fanta E. (2003). Effects of the organophosphorus methyl parathion on the branchial epithelium of a freshwater fish *Metynnis roosevelti*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*; 46 (3): 361-372.
20. Mc Manus JFA. (1948). Histological and histochemical uses of periodic acid. *Stain Technology*; 23:99-108.
21. Miekle P, Richards GN, Yellowles D. (1988). Structural investigations on the mucus from six species of coral. *Marine Biology*; 99:187-193.
22. Mittal AK, Ueda T, Fujimori O, Yamada K. (1994). Histochemical analysis of glycoproteins in the unicellular glands in the epidermis of an Indian freshwater fish *Mastacembelus pancalus* Hamilton. *Histochemical Journal*; 26:666-677.
23. Mittal S, Pinky, Mittal AK. (2002). Characterisation of glycoproteins in the secretory cells in the operculum of an Indian hill stream fish *Garra lamta* (Hamilton) (Cyprinidae, Cypriniformes). *Fish Physiology and Biochemistry*; 33:35-48.
24. Mittal S, Pinky, Mittal AK. (2004). Operculum of peppered loach, *Lepidocephalichthys guntea* (Hamilton, 1922) (Cobitidae, Cypriniformes): a scanning electron microscopic and histochemical investigation. *Belgian Journal of Zoology*; 134(1):9-15.
25. Pavanelli CS. (2003). Family Parodontidae (Parodontids). In: Reis, RE, Kullander SO, Ferraris Jr CJ (eds) *Check list the freshwater fishes of south and central America*. EDIPUCRS, Porto Alegre. pp 46-50.
26. Pearse AGE. (1985). *Histochemistry*. Theoretical and applied. Vol. 2. Edinburgh: Churchill Livingstone.
27. Pinky, Mittal S, Mittal AK. (2008). Glycoproteins in the epithelium of lips and associated structures of a hill stream fish *Garra lamta* (Cyprinidae, Cypriniformes): a histochemical investigation. *Anatomia Histologia Embryologia*; 37: 101-113.
28. Reid PE, Culling CFA, Dunn WL. (1973). Saponification induced increase in the periodic acid Schiff reaction in the gastrointestinal tract. Mechanism and distribution of the reactive substance. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*; 21: 473-483.
29. Sabóia-Moraes SMT, Hernández-Blázquez FJ, Mota DL, Bittencourt AM. (1996). Mucous cell types in the branchial epithelium of the euryhaline fish *Poecilia vivipara*. *Journal of Fish Biology*; 49:545-548.
30. Sarasquete C, González de Canales ML, Arellano JM, Muñoz-Cueto JA, Ribeiro L, Dinis MT. (1998). Histochemical study of skin and gills of Senegal sole, *Solea senegalensis* larvae and adults. *Histology and Histopathology*; 13:727-735.
31. Solanki TG, Benjamin M. (1982). Changes in the mucous cells of the gills, buccal cavity and epidermis of the nine-spined stickleback, *Pungitius pungitius* L., induced by transferring the fish to sea water. *Journal of Fish Biology*; 21:563-575.
32. Tibbets IR. (1997). The distribution and function of mucous cells and their secretions in the alimentary tract of *Arrhamphus sclerolepis krefftii*. *Journal of Fish Biology*; 50:809-820.
33. Volz D, Reid PE, Park CM, Owen DA, Dunn WL. (1987). A new histochemical method for the selective periodate oxidation of total tissue sialic acids. *Histochemical Journal*; 19:311-318.
34. Whitear M, Mittal AK. (1984). Surface secretions of the skin of *Blennioides pholis* L. *Journal of Fish Biology*; 25:317-331.
35. Zaniboni-Filho E, Meurer S, Shibatta OA, Nuñez AP de O. (2004). *Catálogo ilustrado de peixes do alto rio Uruguai*. Ed. da UFSC. Tractebel Energia. Florianópolis.

ENAMEL TYPES AND THEIR RELATIONSHIP TO BIOMECHANICS

TIPOS DE ESMALTE Y SU RELACIÓN CON LA BIOMECÁNICA

Andrea TANEVITCH; Susana BATISTA; Graciela DURSO; Adrián ABAL; Cristina ANSELMINO; Lila LICATA.

Facultad de Odontología. Universidad Nacional de La Plata. Calle 51 e/1 y 115 Telefax: 0221 423 6775/76. La Plata (1900). Argentina.

E-mail: histología@folp.unlp.edu.ar, gracieladurso@yahoo.com.ar

ABSTRACT. The aim of this work was to establish the relationship existing between the distribution of enamel types in human permanent teeth and their biomechanical adaptation. For this purpose we considered the classification proposed by Koenigswald about hierarchical levels of complexity in the structure of mammalian enamel, which has not yet been applied to the study of human enamel. For sample preparation we used Martin and Wahlert's technique (1999), already tested for the analysis of non human mammalian enamel types. The enamel types found were the following: radial enamel, enamel with Hunter Schreger bands and irregular enamel. These types were found in all the teeth with a different distribution in each tooth group according to the biomechanical exigencies to which each group is exposed. Since teeth concentrate masticatory forces in little areas, the enamel types have to combine in such a way that they can resist wear and fractures. We conclude that the presence of various enamels types and their combination constitute a specialization of enamel microstructure capable of responding to the varied biomechanical demand of the different tooth groups.

Key Words: enamel, microstructure, biomechanics.

RESUMEN. El propósito del presente trabajo fue establecer la relación entre la distribución de los tipos de esmalte en piezas dentarias permanentes humanas y la adaptación biomecánica. Para ello nos basamos en la clasificación propuesta por Koenigswald de niveles jerárquicos de complejidad del esmalte de mamíferos, la cual no fue aplicada al estudio del esmalte humano. Para la preparación de las muestras utilizamos la técnica de Martín y Wahlert (1999) ya probada para el análisis de los tipos de esmalte en mamíferos no humanos. Los tipos de esmalte encontrados fueron: esmalte radial, esmalte con bandas de Hunter Schreger y esmalte irregular, presentes en todas las piezas dentarias con diferente distribución en cada grupo dentario de acuerdo a las exigencias biomecánicas a que se expone cada uno. Dado que los dientes concentran en áreas pequeñas las fuerzas generadas durante la masticación, los tipos de esmalte deben combinarse de manera tal que estos puedan resistir desgastes y fracturas. Concluimos que la presencia de varios tipos de esmalte y su combinación constituye una especialización de la microestructura del esmalte apta para responder a la variada demanda biomecánica de los diversos grupos dentarios.

Palabras clave: esmalte, microestructura, biomecánica.

INTRODUCCIÓN

Los dientes concentran las fuerzas generadas por los músculos en áreas pequeñas como las superficies de contacto y cúspides o bordes incisales. El esmalte dental es el tejido más expuesto a fuerzas oclusales altas, por el extenso procesamiento de la comida en la cavidad bucal y la relación de contacto oclusal entre las piezas dentarias, por lo cual debe resistir desgastes y fracturas.

El esmalte es una estructura cristalina sumamente compleja. Los prismas del esmalte son haces de cristales de hidroxiapatita ordenados y densamente empaquetados por una delicada red de material orgánico que los envuelve. Se considera el prisma como la unidad estructural básica del esmalte y se denomina esmalte prismático al conjunto de prismas que constituye la mayor parte de la matriz mineralizada (1).

En la clasificación de niveles jerárquicos de complejidad del esmalte mamífero de Koenigswald (2) se consideran los siguientes niveles: 1) nivel cristalitas, 2) nivel prismas, 3) nivel tipo de esmalte, 4) nivel patrón y 5) nivel dentición. Este trabajo se ha basado en el nivel tipo de esmalte, que hace referencia a los esmaltes prismáticos. Estos frecuentemente están organizados en capas; dentro de cada capa los prismas tienen morfología, orientaciones y empaquetamientos similares. En el esmalte prismático se presentan volúmenes donde los prismas son paralelos unos con otros (esmalte radial y esmalte tangencial) o se entrecruzan entre sí de manera ordenada (esmalte con bandas de Hunter Schreger) o desordenada (esmalte irregular). A su vez, en el esmalte irregular el entrecruzamiento de prismas puede ser en haces (esmalte 3D) o en prismas individuales (3).

Los prismas que terminan en la superficie oclusal casi en ángulo recto, permiten conservar bajos rangos de abrasión y mejor borde cortante. Sin embargo, si tienen una orientación paralela entre sí, cuando las fuerzas de tensión superan valores críticos, pueden aparecer rajaduras o crack a lo largo del esmalte (4). Los dientes tienen

una tendencia a fracturarse a lo largo del eje mayor del prisma con mayor frecuencia respecto del eje menor. El entrecruzamiento de prismas provee un mecanismo de detención de rajaduras y potencia la resistencia a las fuerzas tensionales (5).

Dado que en cada uno de los tipos de esmalte de los prismas tiene una disposición óptima para responder a funciones específicas, el propósito del presente trabajo fue establecer la relación entre la distribución de los tipos de esmalte en piezas dentarias permanentes humanas y la adaptación biomecánica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron piezas dentarias humanas permanentes extraídas por indicación pertenecientes a los grupos incisivo, canino y premolar del maxilar superior. Los dientes fueron seccionados longitudinalmente en sentido labio-palatino y cada hemisección fue incluida en resina epóxica. Cada corte fue desgastado en forma progresiva con lijas al agua de grosores de 200, 600, 1200 y 2.200 μm y pulido con óxido de aluminio en polvo de 5 μm de granulación. Las muestras fueron lavadas con agua a presión y con ultrasonido durante 10 minutos y posteriormente grabadas con una solución de ácido clorhídrico al 10% durante 4 segundos. La metodología de preparación de los especímenes puede ser consultada en Martin y Wahlert (1999) (6). Las muestras fueron observadas y fotografiadas bajo lupa binocular para obtener la plantilla que facilitó determinar las áreas de interés para observación mediante microscopio electrónico de barrido (MEB). Los especímenes fueron montados en porta-muestras para microscopio electrónico de barrido, deshidratados con alcohol etílico, secados y metalizados en Fine Coat Sputer J.T.C.1100 con oro paladio. Las observaciones se realizaron en un microscopio electrónico de barrido modelo JSM-6360 LV (bajo vacío).

Las micrografías se registraron en las caras labial y palatina en tres zonas (cervical, media e incisal o cuspídea) y en las cúspides de

premolares, en la zona interna (próxima al límite amelodentinario) y externa.

RESULTADOS

Los tipos de esmalte identificados fueron esmalte radial, esmalte con bandas y esmalte irregular, con una distribución característica para cada uno de los grupos dentarios; no se encontró esmalte tangencial en ninguna de las muestras estudiadas.

El esmalte con bandas presentaba las típicas bandas claras y oscuras cuando era observado con baja magnificación, mientras que a mayores aumentos se confirmaba que este tipo de esmalte correspondía a bandas o capas alternantes de prismas seccionados longitudinalmente con otras de sección transversal.

En piezas dentarias del grupo incisivo, en las zonas incisal y media, se encontró esmalte con bandas en las caras labial y palatina. Las bandas se extendían desde el límite amelodentinario hacia la superficie externa y ocupaban la mayor parte del espesor del esmalte, presentaban una orientación ascendente cuando se acercaban a incisal, mientras que próximo a la superficie externa el esmalte era de tipo radial (Figs. 1 y 2)



Fig 1. Esmalte con bandas en la zona incisal de la cara labial en incisivo. Obsérvese la inclinación de las bandas (MEB x120).

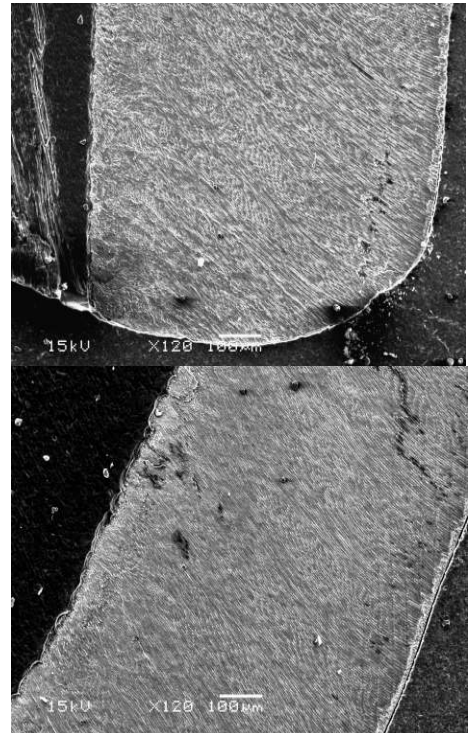


Fig 2. Bandas de Hunter Schreger ocupando los 2/3 internos del espesor del esmalte y esmalte radial externo. Zona media de la cara labial en incisivo (MEB x120).

En la zona cervical de la cara palatina se halló esmalte con bandas, mientras que en la cara labial, sólo se registró esmalte radial (Figs. 3, 4 y 5). En las caras libres (labial y palatina) los prismas del esmalte radial terminaban perpendiculares a la superficie externa en la zona media y oblicuos ascendentes en la zona cervical.

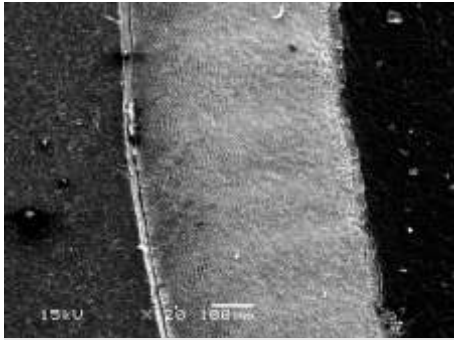


Fig 3. Esmalte con bandas en la zona cervical de la cara palatina en incisivo (MEB x100).

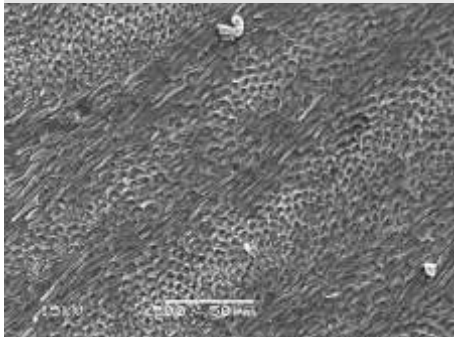


Fig. 4. Detalle de esmalte con bandas. Se alternan capas de prismas en sección transversal y longitudinal (MEB x500).

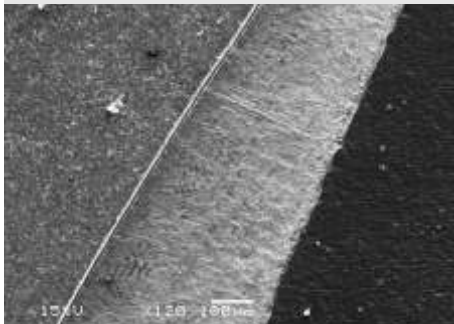


Fig. 5. Esmalte radial en la zona cervical de cara labial en incisivo (MEB x120).

En el grupo canino se observó esmalte con bandas en las zonas incisal y media, en las caras labial y palatina en el esmalte interno; el resto del espesor del esmalte era ocupado por esmalte radial (Figs. 6 y 7).

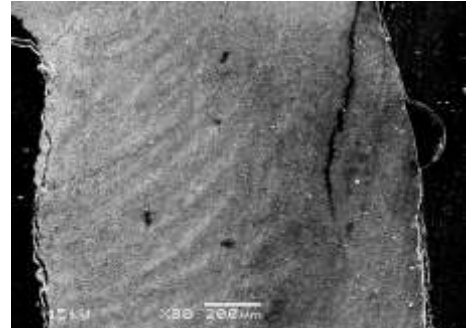


Fig. 6. Esmalte con bandas y esmalte radial en la zona incisal de cara labial en canino. Se aprecian estrias de Retzius en el esmalte radial (MEB x80).

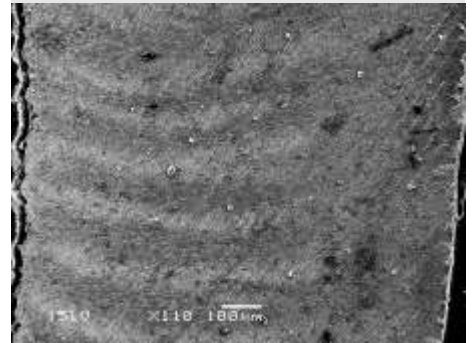


Fig. 7. Esmalte con bandas y esmalte radial en la zona media de la cara labial en canino (MEB x110).

Las bandas presentaron una inclinación ascendente hacia la cúspide, más destacada en la zona incisal. En el tercio cervical de ambas caras libres, en la zona interna observamos entrecruzamientos de prismas que no constituían las típicas bandas, disposición que corresponde a esmalte de tipo irregular (Fig. 8).

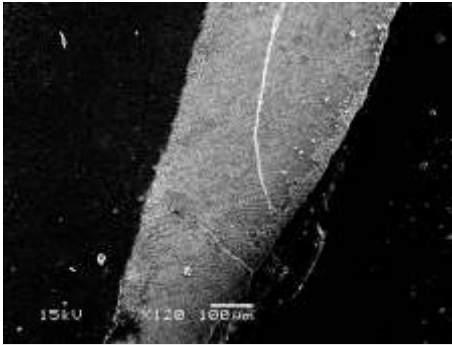


Fig. 8 Esmalte irregular en la zona cervical de la cara labial en canino (MEB x120)

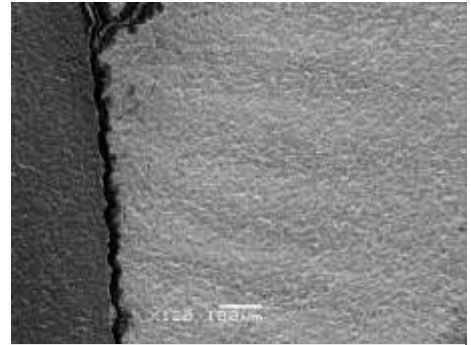


Fig. 10. Esmalte con bandas en disposición horizontal en la cara labial en premolar (MEB x120).

En las cúspides de los premolares, en la zona interna del esmalte próxima al límite amelodentinario, se encontró esmalte irregular con un intrincado entrecruzamiento de grupos de prismas (Fig. 9). En los 2/3 externos de las cúspides se observó esmalte radial, con los prismas que mostraban un cambio de dirección para terminar perpendiculares a la superficie externa del esmalte. En las caras labial y palatina, las bandas ocupaban la mitad del espesor del esmalte con una disposición horizontal y en la mitad externa el esmalte era de tipo radial (Fig. 10).

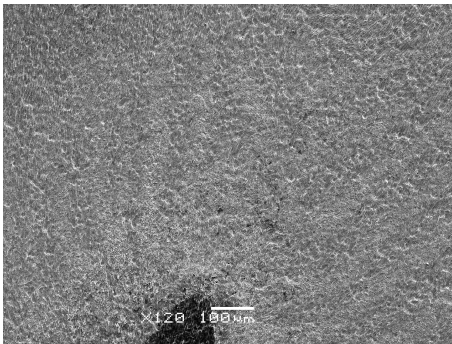


Fig. 9 Esmalte irregular en la zona cuspídea próxima al límite amelodentinario en premolar (MEB x120).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Identificamos esmalte radial, esmalte con bandas y esmalte irregular; por la disposición de los prismas cada uno de estos tipos de esmalte presenta propiedades biomecánicas diferentes. En el esmalte radial los prismas se disponen paralelos unos con otros y terminan en ángulo recto a la superficie externa. Rensberger y Koenigswald (1980) (7), Boyde y Fortelius (1986) (8) sostienen que estas características del esmalte radial permiten cumplir con uno de los requerimientos biomecánicos que es la resistencia a la abrasión y permite conservar un mejor borde cortante debido a la dirección de los cristales que conforman el prisma; por eso este tipo de esmalte se encuentra en la superficie externa del diente. De acuerdo a Shimizu y colaboradores (9) la capacidad de los prismas de disipar estrés de contactos en la superficie, puede influenciar en el promedio de desgaste del diente. Maas (1991) (10) tras estudiar el impacto de la microestructura del esmalte en el microdesgaste, considera que las diferentes respuestas a la abrasión de los esmaltes prismáticos reflejan la influencia de la estructura, pero a nivel de organización de cristalitas, más que a nivel de los prismas en sí.

En las muestras estudiadas, la disposición externa del esmalte radial observada en todos los grupos dentarios, revalida lo expresado por estos

autores con relación a su desempeño biomecánico.

El esmalte radial no resulta efectivo como mecanismo para la detención de rajaduras si las fuerzas de tensión superan valores críticos. Para esto, la presencia de bandas o esmalte irregular en la zona interna al esmalte radial actúa reduciendo el peligro de penetración de fracturas en el esmalte (4). Sin embargo un solo tipo de esmalte no es apto para cumplir todos los requerimientos biomecánicos del diente por lo que deben combinarse (3). Encontramos esmalte radial en la zona externa del esmalte combinado con esmalte irregular o con esmalte con bandas de Hunter-Schreger en la interna.

En las zonas de mayor impacto de las fuerzas masticatorias, como las cúspides de premolares y molares, la marcada decusación de los prismas del esmalte en la parte interna de las mismas constituye un mecanismo de detención de fracturas (5). Según Dos Santos (1987) (11) las fuerzas masticatorias generan tensiones de resistencia internas que son de dirección opuesta,

por ello las estructuras de refuerzo se localizan próximas al límite con la dentina para resistir fracturas, como observamos en nuestro estudio. El esmalte irregular en las cúspides de los premolares mostró un marcado entrecruzamiento de prismas, a diferencia de las caras libres donde era menos evidente. El esmalte irregular de las cúspides resulta compatible con el esmalte nudoso descrito con microscopía óptica.

La organización de los prismas en los tipos de esmalte y la ubicación de estos en cada grupo dentario depende de la función del diente y optimiza su respuesta biomecánica.

Concluimos que la presencia de varios tipos de esmalte y su combinación constituye una especialización de la microestructura del esmalte apta para responder a la variada demanda biomecánica de los diversos grupos dentarios.

Agradecimientos

A la Sra. Patricia Sarmiento del Servicio de Microscopía Electrónica de Barrido del Museo de Ciencias Naturales de La Plata.

REFERENCIAS

1. Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. (2002) *Histología y Embriología Bucodental*. Ed. Médica Panamericana, Madrid, España.
2. Koenigswald W, Clemens W. (1992) Levels of complexity in the microstructure of mammalian enamel, and their application in studies of systematics. *Scanning Microscopy*; 6:195-218.
3. Koenigswald W, Sander P. (1997) Glossary of terms used for enamel microstructures. En: *Tooth enamel microstructure*, Koenigswald W, Sander P. (eds) Balkema, Rotterdam, Países Bajos, pp 267-297.
4. Rensberger J. (1997) Mechanical adaptation in enamel. En: *Tooth enamel microstructure*, Koenigswald W, Sander P. (eds) Balkema, Rotterdam, Países Bajos, pp. 237-257.
5. Jiang Y, Spears IR, Macho GA. (2003) An investigation into fractured surfaces of enamel of modern human teeth: a combined SEM and computer visualization study. *Archs Oral Biol*. 48: 449-457.1.
6. Martin T, Wahlert J. (1999) Preparing teeth for viewing with scanning electron microscope (SEM). <http://research.amnh.org/vertpaleo/enamel/prep.html> [Consulta: 6-1-2007]
7. Rensberge, J, Koenigswald, WV (1980) Functional and filogenetic interpretation of enamel microstructure in rhinoceroses. *Paleobiology*; 6: 477-495.1.
8. Boyde A, Fortelius M. (1986) Development, structure and function of rhinoceros enamel. *Zoological Journal of the Linnean Society*; 87:181-214.
9. Shimizu D, Macho GA, Spears IR. (2005) Effect of prism orientation and loading direction on contact stresses in prismatic enamel of primates: implications for interpreting wear patterns. *Am. J Phys Anthropol*; 126: 427-34.
10. Maas MC. (1991) Enamel structure and microwear: an experimental study of the response of enamel to shearing force. *Am. J Phys Anthropol*; 85: 31-49.
11. Dos Santos, José (1987) *Oclusión. Principios y conceptos*. Editorial Mundi, Buenos Aires, Argentina, pp.164.

SURGICAL AND APPLIED ANATOMY OF THE OMENTUM. BASIS FOR ITS
MEDICAL AND SURGICAL USE

ANATOMÍA QUIRÚRGICA Y APLICADA DEL DELANTAL DE LOS EPIPLONES.
FUNDAMENTOS DE SUS USOS MEDICOQUIRÚRGICOS

Marcelo Héctor CEREZO y Néstor LANARI

Cátedra "A" de Anatomía, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata.

E-mail: mhcerezo@netverk.com.ar

ABSTRACT. The epiploic apron is habitually used by the organism to block abdominal infectious processes, and inclusively it has been used by surgeons to cover bloody surgical zones (vascular bed of cholecystectomy, post-appendectomy, etc.); for that reason it has been called "abdominal police". This roll is fulfilled thanks to the presence of a bactericidal factor and of an angiogenic factor, discovered by Goldsmith and Silvermann, who in experimental models, where they performed aortic prosthetic interpositions (dacron), developing retroperitoneal abscesses, demonstrated both "factors". From this concept we have used a flap from the epiploic apron to cover infected arterial prosthesis and although the prosthetic infection is a nonfrequent complication, it served to avoid the prosthesis extraction and the consequent amputation of the member. This work intended to meticulously study the fascial anatomy of the epiploic apron and its vascularization, with the purpose of obtaining an apron pedicle capable of being mobilized surgically, as it is specified in the work. Fifty-six cases, including 20 anatomical and fetal dissections and 36 surgical cases, were used. From the analysis of the results it has been possible to elaborate a four- type classification of the arterial vascular epiploon, two of which are apt to develop a pedicle and comprise more than 80% of the cases under analysis. In addition, cases in which the pedicle flap has been used are presented.

Key words: applied anatomy, epiplons, vascular pedicle

RESUMEN. El delantal epiploico es utilizado habitualmente por el organismo para bloquear procesos infecciosos abdominales, e inclusive ha sido utilizado por el cirujano para cubrir zonas quirúrgicas cruentas (lecho de colicestomía, postapendicectomía, etc.) por lo que ha sido bautizado con el nombre de "policía abdominal". Este rol lo cumple gracias a la presencia de un factor bactericida y de un factor angiogénico, descubiertos por Goldsmith y Silvermann, quienes en modelos experimentales, en donde realizaban interposiciones prostéticas aórticas (de dacrón), desarrollando abscesos retroperitoneales, demostraron ambos "factores". A partir de este concepto hemos utilizado el colgajo del delantal epiploico para cubrir prótesis arteriales infectadas, que si bien la infección prostética es una complicación no frecuente, nos ha servido para evitar la extracción de dicha prótesis y la amputación consiguiente del miembro. Este trabajo tuvo por objeto estudiar minuciosamente la anatomía fascial del delantal epiploico y su vascularización, con el fin de lograr un pedículo de delantal posible de ser movilizado quirúrgicamente, tal como se especifica en el trabajo. Se utilizaron 56 casos, compuestos por 20 disecciones anatómicas y fetales y 36 casos quirúrgicos. Del análisis de los resultados ha sido posible realizar una clasificación vascular arterial del epiplón en cuatro tipos, de los cuales dos de ellos son aptos para pedicularizar y comprenden más del 80% de los casos. Se presentan además, los casos en los cuales ha sido utilizado este colgajo pedicularizado.

Palabras clave: anatomía aplicada, epiplones, pedículo vascular

Reedición de trabajo publicado en

Ciencias Morfológicas AÑO 1 VOLUMEN I NÚMERO 1 - Pág. 5-17

INTRODUCCIÓN

Quien alguna vez ha practicado o asistido a una intervención quirúrgica por un proceso infeccioso abdominal, habrá observado que el delantal epiploico se encuentra generalmente bloqueando la zona enferma (apendicitis, diverticulitis, colecistitis, etc.). Es más, constituye un gesto frecuente de los cirujanos, el colocar el epiplón encima de la zona operada (colecistectomía, apendicectomía, etc.). Este rol de "policía abdominal" con el que ha sido catalogado el epiplón mayor, un tanto empíricamente, cubriendo "per se" procesos infecciosos y perforativos abdominales ha sido corroborado científicamente, gracias al descubrimiento reciente, por Goldsmith en 1983 y Silvermann en 1985 (9, 10, 16) de un factor "angiogénico" en todo el tejido celular y en el delantal epiploico en especial) así como un factor "bactericida".

Así se han utilizado colgajos de epiplón para exenteraciones cervicales (tratamiento de la linforragia y protección del paquete vascular), en los trasplantes pulmonares (envolviendo la zona de anastomosis bronquial que es avascular, permitiendo así la supervivencia de la unión) y otros usos más.

Basados en los usos mencionados es que lo hemos utilizado también quirúrgicamente y entusiasmados por los resultados es que presentamos este trabajo, que consiste en una minuciosa descripción anatómica (sobre la que hacemos consideraciones originales) y en una explicación del uso quirúrgico que hemos dado a este órgano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se han utilizado 12 cadáveres fetales y 8 cadáveres adultos.

Se ha estudiado minuciosamente el epiplón durante las siguientes intervenciones quirúrgicas con pediculización del mismo:

Intervenciones para cubrir *by-pass* áxilo-femorales infectados, en dos casos.

Intervenciones para cubrir *by-pass* aortobifemorales infectados, en tres casos.

Se ha estudiado el epiplón, además en las siguientes intervenciones quirúrgicas con movilización del delantal por diferentes patologías:

- Cirugía de la aorta abdominal, en 8 casos,
- Cirugía del colon derecho, en 6 casos,
- Cirugía del colon izquierdo, en 4 casos,
- Cirugía renal por vía abdominal, en 2 casos,
- Cirugía gástrica radical, en 11 casos.

El total de casos quirúrgicos es 36.

Como método de trabajo se ha utilizado la inyección con formol, inyección con látex de vasos, técnica de Gerota modificada para linfáticos y transparencias. El método de observación simple fue el utilizado para los casos quirúrgicos.

Anatomía quirúrgica

El epiplón mayor o gastrocólico corresponde embriológicamente, a una procidencia o evaginación inferior de la trascavidad epiploica. Al descender, se topa con el colon transversal y su meso, debiendo rebasarlos por delante y caer a modo de cascada, para llegar, en el adulto, prácticamente hasta el pubis, cubriendo todos los órganos de la cavidad abdominal submesocólica.

Este origen nos muestra que no existe una relación de cobertura entre la bolsa epiploica y el colon transversal, aunque así lo parezca, existiendo solo coalescencias y quedando perfectamente demostrado debido a la disposición vascular del epiplón mayor.

El hecho de ser la prolongación inferior de la trascavidad epiploica, nos aclara sobre el origen de sus cuatro constituyentes. Así, la hoja 1 es la continuación de la lámina pregástrica, la hoja 2 es la continuación de la lámina retrogástrica, la hoja 3 es la continuación de la lámina prepancreática y la hoja 4 es la continuación de la lámina retropancreática.

Las coalescencias se van a producir entre las hojas 1 y 2 y las hojas 3 y 4, constituyendo respectivamente, la lámina refleja y la lámina directa del epiplón mayor. A su vez, las láminas sufren coalescencias entre sí.

Mayores detalles sobre las coalescencias y fijaciones ligamentarias del delantal se especifican en el trabajo original.

Vascularización del epiplón mayor

Resulta desproporcionado observar la relación existente entre el volumen del epiplón y la cantidad de vasos que posee. Evidentemente se superan las exigencias de nutrición que tiene el órgano. Este hecho ya fue observado por el Barón de Río Branco y Rene Leriche (2, 4, 16). Para nuestro estudio cobra enorme relevancia la circulación arterial.

Siguiendo a Haller, la vascularización arterial epiploica se produce a partir de las dos arterias gastroepiploicas derecha e izquierda. Ambos vasos se anastomosan por inosculación siguiendo un arco que sigue a la curva mayor gástrica (arteria gastroepiploica media de Winslow) y eliminando de este arco, ramos ascendentes para el estómago, por los bordes del delantal descienden el “gran ramo epiploico derecho” y el “gran ramo epiploico izquierdo”, ramas de las arterias gastroepiploicas derecha e izquierda respectivamente, que se unen por el borde libre del epiplón, configurando el “arco anastomótico periférico”. Claro está, que la arteria gastroepiploica derecha y su gran ramo epiploico derecho se ubican entre las hojas 1 y 2 del delantal (la lámina refleja), mientras que la arteria gastroepiploica izquierda, en su tronco y su gran ramo epiploico izquierdo, por provenir de la arteria esplénica, discurren por la lámina directa, entre las hojas 3 y 4 (Figura 1).

Evidentemente existe un punto en el cual se produce la anastomosis en el arco anastomótico periférico, en que los vasos pasan de la lámina refleja a la lámina directa. Esto sucede habitualmente en la unión del tercio derecho con los dos tercios izquierdos del borde del delantal. Teniendo en cuenta esta disposición arterial tipo y considerando los 20 especímenes cadavéricos y los 5 casos quirúrgicos en que se utilizó el epiplón para ser pediculizado, hemos podido determinar una clasificación de 4 tipos arteriales del epiplón mayor:

- Tipo “A” (Figura 2) en el que el pedículo de la arteria gastroepiploica derecha es dominante, es del tipo más frecuente, lo hemos observado en 18 casos (72% de la estadística);
- Tipo “B” (Figura 2) en que el pedículo de la arteria gastroepiploica izquierda es dominante, se observó en 4 casos (16% de la estadística).

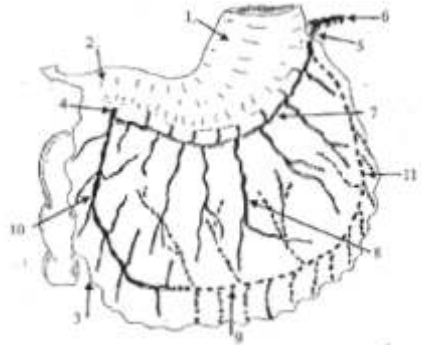


Fig. 1. Disposición habitual de la vascularización arterial del delantal epiploico. En línea continua los vasos correspondientes a la arteria gastroepiploica derecha (por la lámina refleja o anterior) y en línea punteada, los vasos correspondientes a la arteria gastroepiploica izquierda (por la lámina directa o posterior).

1. Estómago 2. Duodeno 3. Epiplón mayor 4. Arteria gastroepiploica derecha 5. Arteria gastroepiploica izquierda 6. Arteria esplénica 7. Arco de la curvatura mayor gástrica o arteria gastroepiploica media de J. B. Winslow 8. Arteria anastomótica descendente principal 9. Arco anastomótico periférico 10. Gran ramo epiploico derecho 11. Gran ramo epiploico izquierdo

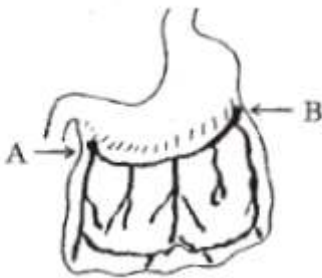


Fig. 2. Tipo "A", existe un pedículo dominante de la arteria gastroepiploica derecha. Es el tipo más frecuente. Tipo "B", existe un pedículo dominante de la arteria gastroepiploica izquierda.

- Tipo "C" (figura 3) en que ambos pedículos gastroepiploicos son de buen calibre y la arteria anastomótica principal es insuficiente o no existe; fue hallada en 2 casos (8%)



Fig. 3: Tipo "C", ambos pedículos son de buen calibre. La arteria anastomótica descendente principal es insuficiente.

- Tipo "D" (Figura 4) en que ambos pedículos gastroepiploicos son de buen calibre. El arco anastomótico periférico es insuficiente o no existe. Es la variedad menos frecuente. Se observó en 1 caso (4%).

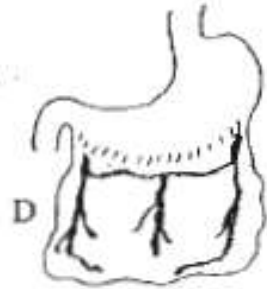


Fig. 4. Tipo "D", ambos pedículos son de buen calibre. El arco anastomótico periférico es insuficiente.

Esta clasificación cobra valor, ya que los tipos aptos para ser pediculizados con nuestra técnica son los tipos A y B, es decir el 88% de nuestro universo.

Las consideraciones sobre la anatomía venos y linfática se desarrollan con detalle en el trabajo original.

Aplicaciones quirúrgicas

"El cirujano, antes acostumbrado a seccionar y suturar, descubrirá que hay un tercer elemento técnico: movilizar. Ello le facilitará los otros dos mencionados, elevándolo a una mejor cirugía" A. R. Albanese, 1977

En todos los servicios de cirugía cardiovascular es bien sabido que la infección de una prótesis de *by-pass* es resuelta únicamente con la exéresis de la misma. El riesgo que conlleva realiza tal resección, así como las consecuencias que esto acarrea, hacen pagar un alto costo, entre los que se incluyen amputaciones de miembros. Basados en trabajos de Mathisen y colaboradores (16) y de Goldsmith y colaboradores (9, 10), entre otros y en el exhaustivo análisis anatómico-quirúrgico presentado (4, 19) es que decidimos utilizar el delantal epiploico como alternativa de extrema elección para intentar resolver esta complicación tan desgraciada.

No serán considerados aquí los pormenores clínicos y bacteriológicos, ya que escapan a un

trabajo de anatomía quirúrgica, pero si será mencionado el modo en que se realizó el colgajo del epiplón pediculado, de un metro de longitud, ya que esto fue posible gracias al conocimiento anatómico.

La técnica tiene dos partes bien distintas, una es la exposición de toda la prótesis, no nos vamos a detener en ella ya que no reviste mayor interés técnico en este trabajo. La otra parte de la técnica se refiere a la exteriorización y pediculización del delantal epiploico.

Una vez abierto el abdomen se procede a la liberación del delantal epiploico (es condición para esta cirugía que el mismo esté bien desarrollado). Para ello se procede a realizar la maniobra de decolamiento intercólioepiploico (Lardennois Ockinzick) despegando la coalescencia entre la hoja 4 del delantal y de la trascavidad epiploica, de la hoja superior del mesocolon transverso. Debe ser despegado y seccionado también el aparato sustentador del ángulo izquierdo del colon. Esto permite que se encuentre totalmente movilizado el delantal, restando solamente su pediculización (Figura 5).

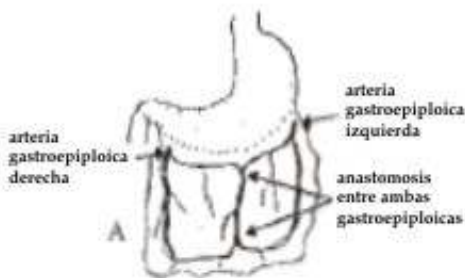


Fig. 5. "A": situación más frecuente de disposición vascular en el epiplón mayor (se elige la arteria gastroepiploica de mayor calibre y se conserva).

De las técnicas descritas para pediculizar el epiplón mayor, la que logra el colgajo más largo es aquella en la que se secciona una de las dos arterias gastroepiploicas y se continúa la sección paralelamente a la curva mayor gástrica, hasta la proximidad de la arteria gastroepiploica indemne (Figura 6).

El presentado es un colgajo para cubrir sectores del abdomen e inclusive del tórax, pero que resulta insuficiente cuando por ejemplo, se pretende envolver un *by-pass* axilo-femoral infectado. Para esta eventualidad hemos desarrollado un colgajo más largo, realizado con artificios de técnica y basados en el conocimiento anatómico.

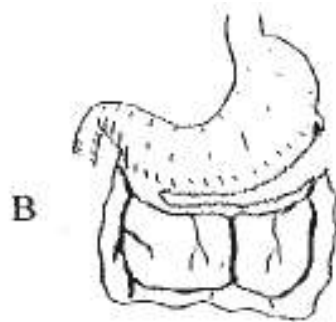


Fig. 6. "B": sección conservando las arcadas de las arterias gastroepiploicas con el pedículo de epiplón mayor.

Hasta el paso presentado en la figura B de la técnica de pediculización nos manejamos con la técnica clásica, pero luego se realiza una serie de secciones que, al desenrollar el delantal, queda con circulación arterial invertida en la arteria gastroepiploica izquierda y la punta del colgajo queda ahora irrigado por la anastomótica entre las dos arterias gastroepiploicas (Figura 7).



Fig. 7. "C": Completas las secciones y desenrollado el epiplón mayor se logra un colgajo de un metro de largo, aproximadamente.

No hemos observado linforragias postoperatorias ni congestión venosa luego de las secciones. Cabe destacar que para considerar viable el colgajo, antes de colocarlo en el sitio que debe cubrir, constatamos la presencia de pulso en la punta del pedículo. La misma medida se toma

al finalizar la colocación.

No se considerará aquí cómo se exterioriza ni como se fija el epiplón, por ser detalles de técnica quirúrgica.

CONCLUSIONES

Una vez más, hemos de recurrir a la actualización anatómica de un órgano para resolver una necesidad quirúrgica. Se ha podido realizar una clasificación anatómica de cuatro tipos o patrones arteriales, que nos permite concluir que el 88% de nuestro universo presentó patrones vasculares pasibles de realizar la técnica propuesta.

Se presenta además una actualización de índole peritoneal del epiplón, así como las consideraciones técnicas de su utilización quirúrgica escuetamente desarrolladas.

REFERENCIAS

1. Casiraghi J C, Brignone R, Neuman M, Sibilla C, Pessagno, JH, Sturla F, Anapios R, Cúneo J L, Martínez JL, Cremona de Ravetta M, Galparin J, Ravetta, C A, Caplan I. (1980). Anatomía del Cuerpo Humano. Funcional y quirúrgica. Tomo 4: 25-50. Editorial Ursino, Buenos Aires.
2. Casiraghi J C (1973). Morfogénesis peritoneal. Fascias de coalescencia. Actas del II Simposio Internacional de Ciencias Morfológicas, p. 47.
3. Castiglioni A (1927). Storia Della Medicina. Societa Editrice "Unitas", Milano
4. Cerezo MH. (1986). El peritoneo. Su actualización anatómica y embriológica. Empleo de nuevas maniobras de decolamiento fascial. Tesis de Doctorado en Medicina. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de La Plata.
5. Couinaud C. (1963). Anatomie de L'abdomen Tomo 1. Doin & Cie, Paris.
6. Couinaud C. (1972). Tratado de Técnica Quirúrgica Tomo 12 de Patel Leger. Toray-Masson, Barcelona.
7. Charpy A, Nicolas A, Poirirer P. (1911). Traité d'anatomie humain. Tomo 4, fasc. 3. Masson et Cie Éditeurs, Paris.
8. Descomps P. (1922). Les zones accolées du peritoine. Leur decollement opertoire. Reveu de Chirurgie:60-451.
9. Goldsmith H. (1983). Protección de prótesis vasculares después de extirpaciones inguinales radicales Clin. Quirur. Nort.:413 - 419.
10. Goldsmith H. (1983). Tratamiento del linfedema postquirúrgico Clin. Quirur. Nort.:407- 412.
11. Gutiérrez A. (1929). Morfogénesis peritoneo-intestinal. Lance,
12. Gutiérrez A. (1920). Base anatómica de las movilizaciones intestinales.
13. Gutiérrez A. (1917). Anatomia topográfica del peritoneo. Tesis de Doctorado en Medicina. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad de Buenos Aires.
14. Hertzler A. (1921). El peritoneo. Calpe Editorial, Madrid.
15. Lain Entralgo P. (1976). Historia Universal de la Medicina. Salvat Editores, Barcelona.
16. Mathisen DJ, Grillo HC, Vlahakes GJ, Daggett WM. (1988). The omentum in the management of complicated cardiothoracic problems. J. Thor. Card. Vasc. Surgery 95: 677-684.

17. Paitre R, Lacaze H, Dupret s. (1937) *Práctica anatómicoquirúrgica ilustrada Abdomen Fasc. 2*. Salvat Editores, Barcelona.
18. Perlemuter L, Waligora J. (1970). *Cuadernos de Anatomía: Abdomen*. Toray- Masson, Barcelona.
19. Ponisio V, Cerezo M. (1982). Empleo del decolamiento fascial en cirugía gástrica radical y abordaje a la celda esplénica. *Actas XI Jornadas de Cirugía de la Prov. de Bs. As. La Plata*, p. 13.
20. Testut L, Latarjet A. (1975). *Tratado de Anatomía Humana*. Tomo 4. Salvat, Barcelona.
21. Wolfrom G. (1922). *L'arriere cavite des epiplons. Schemes d'anatomie topographique*. Deuxieme edition. Vitot Freres Ed, París.

DOCTORADO EN CIENCIAS NATURALES

INFLUENCIA DE LA SUBNUTRICIÓN PROTEICO-CALÓRICA
TRANSGENERACIONAL SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA DESCENDENCIA EN
LA RATA (*Rattus norvegicus albinus* VAR. WISTAR). UN ESTUDIO DE
ANTROPOLOGÍA BIOLÓGICA EXPERIMENTAL.

INFLUENCE OF PROTEIN-CALORIC TRANSGENERATIONAL
UNDERNUTRITION ON THE OFFSPRING GROWTH IN THE RAT (*Rattus
norvegicus albinus* VAR. WISTAR). AN EXPERIMENTAL PHYSICAL
ANTHROPOLOGY STUDY.

Autor: María Florencia CESANI

Director: Dr. Héctor Mario PUCCIARELLI (Facultad de Ciencias Naturales y Museo - Universidad Nacional de La Plata).

Codirector: Dra. Evelia Edith OYHENART (Facultad de Ciencias Naturales y Museo - Universidad Nacional de La Plata).

Lugar: Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP- CCT La Plata-CONICET - Universidad Nacional de La Plata.

Fecha de defensa: 8 de octubre de 2004.

E-mail: mfcسانی@fcnym.unlp.edu.ar

RESUMEN

Los factores “generacionales o transgeneracionales” son definidos como el conjunto de condiciones de naturaleza ambiental experimentados por una generación que inciden sobre la salud, el crecimiento y el desarrollo de las generaciones siguientes. La forma prevalente de desnutrición en poblaciones humanas se caracteriza por su naturaleza crónica y generacional y por lo tanto las deficiencias nutricionales pueden considerarse factores transgeneracionales.

Numerosas poblaciones del mundo viven inmersas en un ambiente con nutrición deficiente y desbalanceada durante muchas generaciones. Un ejemplo son las llamadas “villas de emergencia” muy comunes en nuestro país, donde los recursos económicos son escasos, el saneamiento es muy pobre y los niños consumen dietas con insuficiente contenido proteico. La problemática generacional se torna aún más relevante cuando además de estudiar los efectos que este tipo de estrés puede ejercer a largo plazo, se analiza el alcance que los programas de rehabilitación tienen sobre el crecimiento y desarrollo de las poblaciones afectadas. Por otra parte, algunos autores sostienen la idea de un posible efecto acumulativo de la desnutrición generacional, hecho que se reflejaría en el deterioro progresivo de las sucesivas generaciones.

Dada la multiplicidad de factores que definen el ambiente bio-físico-sociocultural en el que las poblaciones humanas crecen y se desarrollan, no es posible analizar los efectos que un único factor –tal como el nutricional- puede tener a través de varias generaciones. En tal sentido, los trabajos experimentales resultan de gran importancia, puesto que permiten aislar el factor que se desea estudiar y analizar su efecto sobre numerosas generaciones en un corto tiempo.

El objetivo general del trabajo de tesis, fue analizar la existencia de cambios seculares del crecimiento craneano y postcraneano generados por el efecto de la subnutrición transgeneracional. La

hipótesis de nulidad a contrastar fue: “Cuando la desnutrición actúa con intensidad constante en varias generaciones, el retardo de crecimiento es no acumulativo”.

Se trabajó con ratas de laboratorio de la especie *Rattus norvegicus albinus* (cepa Wistar) proveniente de una colonia del bioterio del Instituto de Genética Veterinaria IGEVET, Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP-CCT La Plata-CONICET).

Se conformaron los siguientes grupos experimentales:

1. Control (generación parental, P), animales que durante todo el experimento (21 a 100 días de edad) recibieron alimento balanceado ad libitum.
2. Subnutridos, animales que a partir del destete recibieron el 75% del alimento consumido por un animal control de su misma edad, sexo y peso corporal (técnica de pair feeding). Al alcanzar la madurez sexual (80 días de edad aproximadamente) las hembras fueron colocadas en apareo con machos del grupo 1. Las crías nacidas de estas madres constituyeron la primera generación subnutrida (F1): durante la lactancia las madres recibieron alimento balanceado ad libitum y al destete las crías fueron subdivididas en dos grupos que fueron pesados diariamente y recibieron el 75% del alimento consumido por un animal control: (a) el grupo de animales propiamente experimentales y (b) las hembras destinadas a proveer animales de la siguiente generación o segunda generación subnutrida (F2). Este grupo recibió el mismo tratamiento que la generación F1.

Aproximadamente 10 machos y 10 hembras, de cada grupo generación (P, F1 y F2) fueron radiografiados en normas lateral y dorsal a los 21, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 días de edad. Sobre cada placa radiográfica, se realizó un relevamiento métrico del cráneo y del esqueleto postcraneal. El análisis craneano se realizó siguiendo un criterio funcional, que incluye tres niveles de integración: complejo craneofacial, componentes mayores (neurocraneano y facial) y subcomponentes (neural anterior, neural medio, neural posterior, ótico, masticatorio, respiratorio y alveolar). Con los datos se calcularon índices volumétricos y morfométricos. El relevamiento métrico postcraneano se focalizó en los ejes axial (longitud corporal) y apendicular (femoral y humeral).

El procesamiento estadístico consistió en: (1) prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov, (2) test paramétrico de análisis de la varianza (ANOVA) y pruebas post hoc LSD (Least Square Differences) para las variables postcraneanas y (3) tests no paramétricos de Kruskal-Wallis (K-W) y Kolmogorov-Smirnov (K-S) para k muestras, para las variables craneanas. Se analizaron los cambios ocurridos en cada generación subnutrida (efecto intrageneracional P-F1 y P-F2) y aquellos ocurridos entre las generaciones subnutridas (F1-F2).

Los resultados obtenidos indicaron que:

- (a) La subnutrición intrageneracional, provoca:
 - (a1) Retardos del crecimiento ponderal y óseo en ambos sexos. El peso se ve más comprometido que la longitud corporal, provocando retardo de crecimiento de tipo asimétrico.
 - (a2) Cambios de tamaño y forma del complejo craneofacial, producto de la reducción volumétrica diferencial de los componentes mayores y menores. El neurocráneo es afectado en mayor medida que el esplanocráneo y el neural anterior, ótico y masticatorio que el resto de los subcomponentes.
- (b) La subnutrición transgeneracional provoca:
 - (b1) Retardo acumulativo del crecimiento ponderal y óseo (excepto la longitud humeral) en ambos sexos, con modificación de la forma corporal. El peso se ve más comprometido que la longitud corporal.
 - (b2) Reducción volumétrica acumulativa en ambos componentes mayores con un deterioro progresivo conforme los animales crecen.
 - (b3) Comportamiento diferencial de los subcomponentes craneanos, reflejando respuestas adaptativas a demandas funcionales específicas. Mientras que los machos no evidencian cambios morfométricos

transgeneracionales, las hembras presentan una reducción volumétrica neural mayor en la segunda generación. La variación alométrica observada se debe a un crecimiento relativo menor de los subcomponentes neurales medio, posterior y respiratorio.

(c) En condiciones de normonutrición, hay diferencias sexuales tanto del crecimiento ponderal como del lineal, en este caso los machos son de mayor tamaño que las hembras. La subnutrición modifica estos patrones de diferenciación por cuanto los machos en general presentan mayor retardo de crecimiento que las hembras. Esta resistencia de las hembras por mantenerse en el canal de crecimiento, se ve reflejada también en una manifestación más tardía del efecto acumulativo transgeneracional.

(d) Las diferencias observadas entre grupos generacionales son indicativos de la presencia de tendencia secular negativa y demuestran la existencia de patrones de crecimiento específicos en cada generación.

De los resultados expuestos, se concluye que: cuando la desnutrición actúa con intensidad constante durante varias generaciones, el retardo de crecimiento es acumulativo. Los estudios nutricionales transgeneracionales permiten analizar procesos adaptativos, y por ende evolutivos, específicos de las poblaciones humanas. Aunque estos resultados experimentales no sean directamente extrapolables al hombre, resultan de fundamental importancia para avanzar en el conocimiento de la tendencia secular negativa en poblaciones humanas.

Palabras clave: desnutrición generacional, crecimiento, antropología experimental.

ABSTRACT

The “generational or transgenerational” factors are defined as the set of conditions of environmental nature experienced by a generation that affect the health, growth and development of the next. The prevalent form of undernutrition in human populations is characterized by its chronic and generational nature, and therefore the nutritional deficiencies can be considered as transgenerational factors.

Numerous populations of the world live immersed in an environment with deficient and unbalanced nutrition during many generations. As an example the so-called “shanty towns” are very common in our country, where the economic resources are little, the cleaning is very poor and the children consume diets with insufficient protein content. The generational problematic becomes still more relevant when, besides studying the effects that this type of stress can exert in the long term, the extent that rehabilitation programs have on the growth and development of the affected populations is analyzed. On the other hand, some authors support the idea of a possible cumulative effect of the generational undernutrition, a fact that would be reflected in the progressive growth retardation of the successive generations.

Given the multiplicity of factors that define the bio-physical-sociocultural environment in which the human populations grow and develop, is not possible to analyze the effects that a unique factor - as the nutritional factor- may have through several generations. In such sense, experimental works are of great importance, since they allow isolating the factor that is desired to study and to analyze its effect on numerous generations in a short time.

The general aim of the thesis' work was to analyze the existence of secular changes of the cranial and postcranial growth generated by the effect of the transgenerational undernutrition. The null hypothesis to contrast was: “When the undernutrition acts with constant intensity in several generations, the growth retardation is noncumulative”

Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*) raised at the Bioterio of the Instituto de Genética Veterinaria (IGEVET), Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP-CCT La Plata) were used.

The following experimental groups were set up:

1. Control (parental generation, P), animals that throughout the experiment (21 to 100 days of age) received stock diet ad libitum.
2. Undernourished, female rats that since weaning were submitted to nutritional restriction (75% of daily food intake of a control dam aged-matched, pair feeding technique). When reaching sexual maturity (80 days old, approximately) females were placed to mate overnight with males from group 1. Pups born from these mothers constituted the first undernourished generation (F1): during lactation dams received stock diet ad libitum. At weaning the pups were subdivided in two groups that were weighted daily and received 75% of the food eaten by their control peers: (a) the properly experimental animal group and (b) the females destined to provide animals for the following generation or second undernourished generation (F2). This group received same treatment as generation F1.

Approximately 10 males and 10 females, of each generation group (P, F1 and F2) were X-rayed in lateral and dorsal planes at 21, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 and 100 days of age. Metric measurements of the skull and the postcranial skeleton were performed on each radiographic plate.

The cranial analysis was made following a functional criterion, which included three levels of integration: neurocranial craniofacial complex, major components (neurocranium and face) and subcomponents (anterior-neural, middle-neural, posterior-neural, otic, masticatory, respiratory and alveolar).

Volumetric and morphometric indices were calculated from data. The metric postcranial measurements were focused in the axial (body length) and appendicular axes (femoral and humeral).

The statistical processing consisted of: (1) Kolmogorov-Smirnov test of goodness of fit, (2) Parametric test of variance analysis (ANOVA) and tests post hoc LSD (Least Square Differences) for the postcranial variables, and (3) Kruskal-Wallis (K-W) and Kolmogorov-Smirnov (K-S) tests for k samples, for the cranial variables. Changes occurred in each undernourished generation (intragenerational effect P-F1 and P-F2) and those occurred between undernourished generations were analyzed (F1-F2).

Results obtained showed that:

(a) Intragenerational undernutrition produces:

(a1) Retardations of the ponderal and bone growth in both sexes. The weight is more affected than the body length, causing growth retardation of asymmetric type.

(a2) Changes of size and form of the craniofacial complex, product of the differential volumetric reduction of the major and minor components. Neurocranium is affected in a greater extent than the splanecranium and the anterior, otic and masticatory than the rest of the subcomponents.

(b) Transgenerational undernutrition produces:

(b1) Cumulative retardation of the ponderal and bone growth (except for the humeral length) in both sexes, with modification of the body shape. The weight is more affected than the body length.

(b2) Cumulative volumetric reduction on both major components with a progressive deterioration as the animals grow.

(b3) Differential behavior of the cranial subcomponents, reflecting adaptive answers to specific functional demands. Whereas the males do not demonstrate transgenerational morphometric changes, the females do present a greater neural volumetric reduction in the second generation. The observed allometric variation must be due to a smaller relative growth of the anterior-neural, posterior-neural and respiratory subcomponents.

(c) In normonutrition conditions, there are sexual differences both in the ponderal and in the linear growth. In this case the males were greater than the females. Undernutrition modifies these patterns of differentiation inasmuch males in general present greater growth retardation than females. This resistance of the females to stay in the growth channel is also reflected in one more delayed manifestation of the transgenerational cumulative effect.

(d) The differences observed between generational groups are indicative of the presence of negative secular trend and demonstrate the existence of specific growth patterns in each generation.

Of the exposed results, it is concluded that: when the undernutrition acts with constant intensity during several generations, the growth retardation is cumulative. The transgenerational nutritional studies allow to analyze adaptive processes, and therefore evolutionary, specific of the human populations. Although these experimental results cannot be directly extrapolated to man, they are of fundamental importance to advance in the knowledge of the negative secular trend in human populations.

Key words: generational undernutrition, growth, experimental anthropology.

