

03068

13
28

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Colegio de Ciencias y Humanidades Unidad Académica de los Ciclos
Profesionales y de Posgrado
Centro de Neurobiología e Instituto de Investigaciones Biomédicas

**ALTERACIONES NEUROANATOMICAS DEL
HIPOCAMPO Y DE ALGUNOS PROCESOS COGNITIVOS
EN RATAS SOMETIDAS A UNA DIETA HIPOPROTEINICA
POSTNATAL**

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS
presenta

Biol. Leticia Parra Gámez.

Director de tesis: Dra Sofía Y. Díaz Cintra

México, D.F.

1995.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A Jesús por constituir el apoyo y comprensión que necesito en todo momento

A Rodrigo que ha sido mi más grata y paciente compañía de todo este trabajo.

A nuestro nuevo bebe pues también forma parte de este esfuerzo

A mis padres y hermanos.

Agradecimientos

A la Dra. Sofia Díaz Cintra por brindarme un sincero apoyo en todo momento y darme la oportunidad de crecer académicamente así como participar en su línea de investigación

A la Dra. Mayra García-Ruiz porque sus conocimientos y consejos fueron fundamentales para el buen término de este trabajo.

A los miembros del jurado: Dr. Roberto Prado Alcalá, Dra. Carolina Escobar Briones y Dra. Gina L. Quirarte por sus oportunas críticas y valiosas opiniones a este trabajo.

A la Biol. Azucena Aguilar y M. en C. Agustín Galván por su asistencia técnica.

A CONACYT y DGAPA (proyecto IN-2004892) por apoyar económicamente esta investigación.

INDICE

RESUMEN	
INTRODUCCIÓN	1
PERIODOS CRÍTICOS Y DESARROLLO CEREBRAL	2
Desnutrición prenatal y postnatal	5
La desnutrición y su efecto en la conducta y en el aprendizaje	7
HIPOCAMPO	9
Organización anatómica de la formación hipocámpica	9
Citoarquitectura	12
Subdivisiones del hipocampo	15
Citoarquitectura del campo CA3	16
Conexiones del hipocampo	17
Ontogenia del hipocampo	20
Funciones	21
EL HIPOCAMPO COMO MODELO DE SISTEMA CEREBRAL	23
HIPOCAMPO Y DESNUTRICIÓN	24
HIPÓTESIS	28
OBJETIVOS	29
MATERIALES Y MÉTODOS	30
Procedimiento histológico	33
Análisis morfométrico	34
Entrenamiento en la tarea de prevención pasiva.	39
Análisis estadístico	41

Análisis estadístico	41
RESULTADOS	43
Peso corporal y cerebral	43
Morfometría	44
Entrenamiento por prevención pasiva	56
DISCUSIÓN	60
Peso corporal y cerebral	60
Neuroanatomía	61
Prevención pasiva	68
CONCLUSIONES	72
REFERENCIAS	73

RESUMEN

Se investigó, en ratas (Sprague Dawley) de 30 y 90 días de edad, los efectos que tiene la desnutrición hipoproteínica postnatal sobre la citoarquitectura de las neuronas piramidales del campo CA3 del hipocampo, así como las posibles deficiencias en la ejecución de una prueba de prevención pasiva. Para el primer estudio (anatómico), se emplearon 24 ratas macho divididas en 4 grupos de 6 animales cada uno: dos grupos por cada condición experimental y edad. En el segundo estudio (conductual) se emplearon 40 ratas macho divididos en 4 grupos de 10 ratas cada uno.

El estudio morfométrico se realizó en el hipocampo teñido con el método de Golgi-rápido. En cortes seriados, se localizaron aquellas neuronas piramidales bien impregnadas en el *cornu ammonis* 3 (CA3b) del hipocampo para medir (a través de un sistema computarizado de imágenes digitalizadas) los siguientes parámetros del soma neuronal: perímetro, área, eje mayor y eje menor, así como de la dendrita apical su longitud, el perímetro y área de la zona de excrescencias; se midieron también las densidades dendríticas (apicales y basales), y de las espinas localizadas en la zona de excrescencias. El estudio conductual se realizó en los 4 grupos de animales entrenados en un paradigma de prevención pasiva de un solo ensayo, en el cual se registró la adquisición, el escape y la retención (a las 24 y 48 horas y 7 días post adquisición).

La desnutrición hipoproteínica postnatal en el primer estudio, mostró reducciones significativas en la mayoría de los parámetros celulares medidos (tamaño del soma, longitud de la dendrita apical, perímetro y área de excrescencias, densidades de las dendritas apicales y basales así como la de las espinas). Además, estas reducciones son dependientes de la edad. En el segundo estudio, se encontró que los animales de 30 días de edad no fueron capaces de desempeñar de manera eficiente la tarea de prevención pasiva en ninguna de las sesiones de retención. Por el contrario, en los animales de 90 días de edad el aprendizaje fue bajo lo que propone la necesidad de aumentar el reforzador para lograr un mejor desarrollo de la tarea. Esto indica que la desnutrición postnatal deteriora los procesos de aprendizaje y memoria en animales jóvenes debido a que en esta edad aún no se ha terminado la maduración y desarrollo cerebral (periodo vulnerable).

Los resultados conductuales explican de algún modo que el sustrato anatómico esta alterado por la desnutrición ya que la integración funcional no se da de un modo correcto, repercutiendo a su vez en los procesos de aprendizaje y memoria de manera más evidente en animales jóvenes.

INTRODUCCIÓN

Es bien conocida la importancia que tiene el aporte adecuado de nutrientes para el buen desempeño de todos los procesos fisiológicos en los seres vivos. No obstante, la mala alimentación constituye un problema generalizado en prácticamente todo el mundo, afectando principalmente a los individuos durante los primeros años de vida y con esto alterando su desarrollo normal. Así, se acepta que una buena alimentación debe cubrir los requisitos biológicos, psicológicos y sociales de un individuo, lo que permite la relación del individuo con su medio ambiente. El desajuste de estos factores ambientales provoca alteraciones críticas en la maduración y el desarrollo del organismo y en particular al Sistema Nervioso Central (SNC) debido a que este tejido es altamente vulnerable a deficiencias en el aporte nutricional. Dependiendo de la naturaleza de esta deficiencia, los efectos en los patrones del desarrollo conductual e intelectual se manifestarán también de modo variable. Es común que la pobreza, la privación socio cultural y la baja estimulación sensorial sean factores agregados a la desnutrición y que, en suma afecten el desarrollo intelectual del niño desnutrido (Galler, 1984). Es por ello que en los últimos veinticinco años se ha otorgado especial importancia a determinar el efecto que tiene la desnutrición sobre el desarrollo del SNC, y en especial cuando esta ocurre entre el último trimestre de la gestación y los dos primeros años de vida

del niño. Durante esta etapa la desnutrición provoca alteraciones permanentes en el desarrollo neural, en la arquitectura y en la neuroquímica cerebral, lo que trae como consecuencia deficiencias en las funciones superiores del SN.

Por otra parte, una limitante en el estudio de la desnutrición en el hombre es que la cantidad y variedad de factores sociales que participan en el desarrollo mental del individuo son difíciles de controlar, por lo que se recurre a modelos experimentales en donde la influencia de factores sociales y nutricionales son fácilmente controlables.

PERIODOS CRÍTICOS Y DESARROLLO CEREBRAL

En todos los animales incluyendo al hombre, los procesos del desarrollo y organización cerebral ocurren durante la gestación o durante el periodo neonatal, se encuentran demarcados por periodos de máxima vulnerabilidad. En esta etapa, existe una alta susceptibilidad a la influencia de agentes exógenos, como puede ser la desnutrición, la cual puede provocar retraso en la maduración celular y en el establecimiento de la circuitería neuronal (Dobbing, 1972; Smart, 1991). En los periodos, identificados como críticos, ocurre un "crecimiento cerebral rápido", es decir, una tasa máxima de proliferación, migración y diferenciación celulares. Durante el periodo perinatal los procesos de desarrollo cerebral incluyen una serie de regulaciones y cambios celulares secuenciales entre los que pueden mencionarse la división celular (neurogénesis y gliogénesis), la migración y diferenciación

neuronales. En seguida ocurre el crecimiento del árbol dendrítico, las extensiones axónicas, y la formación de circuitos. Finalmente, ocurren la mielinización, la sinaptogénesis, la síntesis y liberación de neurotransmisores, y la muerte celular selectiva conocida como "apoptosis" (Winick y Noble, 1966; Dyson y Jones, 1976).

Se sabe, por diversas investigaciones que el desarrollo del SNC es diferente en los mamíferos, así hay animales precoces que nacen con sus sistemas sensoriales maduros, a diferencia de aquellos altricios en donde el desarrollo de las estructuras constituyentes del SNC y sistemas sensoriales empiezan desde la gestación y continúan después del nacimiento. Este es el caso del hombre y la rata (Fig. 1) en donde la heterocronía del SNC da como resultado una distribución temporal de vulnerabilidad a los diferentes factores ambientales (i.e, desnutrición, fármacos, alcohol, drogas, etc.). Entendiendo como heterocronía a la formación de las estructuras cerebrales en diferentes momentos de la ontogenia, es comprensible que el desarrollo cerebral puede estar afectado selectivamente en periodos prenatales y/o posnatales quedando en directa dependencia del tiempo y duración en el que se presente el daño (Morgane et al., 1993).

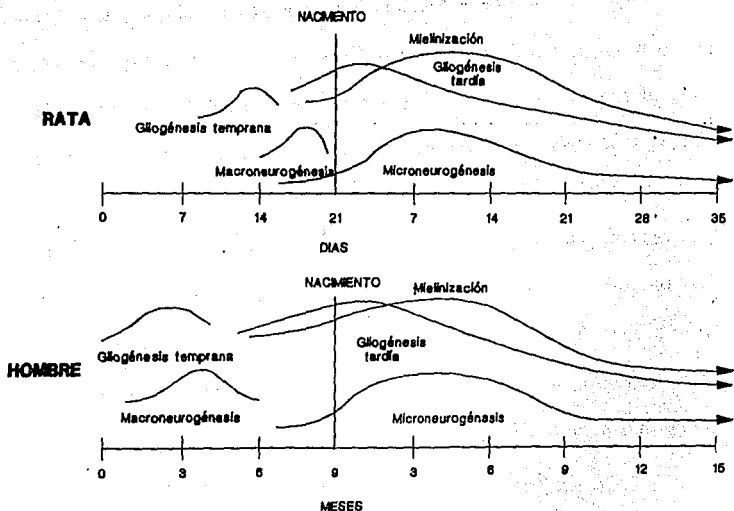


Fig 1. Comparación entre los eventos principales que ocurren en el desarrollo cerebral de ratas y humanos. Los puntos máximos en las curvas corresponden a los períodos de vulnerabilidad relacionados a estados de maduración específicos en donde los factores endo y exógenos pueden afectar el desarrollo cerebral normal (Modificado de Morgane et al., 1993).

Desnutrición Prenatal y Postnatal

La desnutrición intrauterina y la postnatal se cuentan como situaciones comunes en muchas comunidades mundiales aunque su etiología es compleja y multifactorial. La primera (i.e., la desnutrición intrauterina o prenatal) parece estar relacionada a diversos factores; unos relacionados con disturbios genéticos del embrión y otros con defectos en el desarrollo de la placenta que redundarán en un riego sanguíneo deficiente al feto y por tanto, producirán alteraciones en el paso de nutrientes a través de la placenta. Este tipo de malnutrición, instalada en el desarrollo temprano de la gestación puede ocasionar alteraciones crónicas muy severas en estructuras de desarrollo cerebral temprano (Chase et al., 1971). En tanto que, las alteraciones que produce la desnutrición postnatal sobre el tejido cerebral inciden sobre los patrones de maduración y sinaptogénesis del SN, (Morgane et al., 1978; 1993; Smart 1987 y 1991) y sólo se restituye parcialmente la función por medio de una terapia nutricional oportuna (Dyson y Jones, 1976).

En el periodo perinatal la desnutrición altera la migración de las células desde zonas periventriculares hasta los sitios blanco donde deberan establecerse, ocasionando laminación indefinida, decremento en el grosor y en la densidad de diferentes zonas del SNC (Debassio y Kemper, 1985); también en aquellas poblaciones neuronales (células de proyección Golgi tipo I) que tienen un periodo de crecimiento y maduración postnatal, además ocasiona disminución en la proliferación de células gliales y en la formación de las capas de mielina (Winick y Noble, 1966),

así como disminuciones en la amplitud de proyecciones dendríticas y en la densidad de espinas dendríticas (Cragg, 1972, Dyson y Jones, 1976; Morgane et al., 1978). En ratas y ratones, Winick (1969), encontró que la desnutrición instalada durante el periodo de lactancia provoca reducción en el número de células cerebelosas de manera permanente. Por esta razón, el periodo postnatal en la rata se identifica como vulnerable, ya que la falta de nutrimentos provoca retraso en el patrón de crecimiento normal.

La actividad eléctrica también es considerada un índice de la integridad funcional neuronal, y puede ser alterada por la mala nutrición perinatal, pues se ha reportado retardo en la maduración del patrón electroencefalográfico (Schulte et al., 1972), en especial el patrón de retraso en la actividad del ritmo theta presente durante el sueño MOR (Bronzino et al., 1983; Morgane et al., 1985). La distribución circádica de los patrones electroencefalográficos del ritmo sueño vigilia también se ven alterados por la desnutrición principalmente la distribución de los patrones del sueño paradójico (Cintra et al., 1993), que muestran un retraso de fase. Al registrar potenciales provocados por estímulos visuales, auditivos o somatosensoriales, se ha encontrado aumento en la latencia y disminución de la amplitud en los componentes tardíos (Morgane et al., 1978; 1993 Salas y Cintra, 1975).

La desnutrición y su efecto en la conducta y en el aprendizaje

La desnutrición postnatal interfiere sobre el desarrollo físico, provocando reducción de la talla y peso corporal. También retrasa la maduración de patrones motores reflejos resultando un retraso en la capacidad para erguir la cabeza (Altman et al., 1971) y en la aparición del patrón de nado (Salas, 1972). Asociado a la desnutrición se ha observado retraso en la apertura de párpado y del conducto auditivo. (Biel 1939; Hall et al., 1979, Laughlin et al., 1984), disminución de las conductas exploratorias, de aseo, de ingesta de agua, y de alimento (Massaro et al., 1977). La conducta social de las crías desnutridas se encuentra también alterada en lo que se refiere a la constitución de la camada ya que se observa que permanecen más tiempo en el nido, son más dependientes de la madre, muestran un menor número de contactos sociales entre sí, siendo estos más agresivos (Franková, 1973). Estudios con madres que fueron desnutridas en edad temprana indican deficiencias en su conducta materna que consisten en una construcción y mantenimiento deficiente del nido (Wiener et al., 1977), poca atención e inadecuada manipulación a sus crías (Salas et al., 1984).

De esta manera podemos decir que las consecuencias generales producidas por la desnutrición en animales de experimentación se suscriben al retraso de la aparición de los reflejos y de las primeras conductas propias del desarrollo en estos animales, alteraciones en el comportamiento social, además de menor exploración y una respuesta emocional exagerada (Smart y Dobbing, 1971).

En estudios realizados para determinar el desempeño de los individuos desnutridos en tareas vinculadas con el aprendizaje y la memoria encontramos que la discriminación visual, la memoria espacial así como el aprendizaje de evitación a estímulos nocivos son los paradigmas estudiados más frecuentemente. Los resultados hasta hoy obtenidos en los diversos paradigmas de aprendizaje y memoria relacionados con las alteraciones en la dieta, son contradictorios de manera que no resuelven cual es el efecto de la desnutrición sobre la capacidad de aprendizaje. Lo que si es posible notar es que existen variables cada vez mejor definidas, determinantes de la ejecución en pruebas de aprendizaje y que deben ser consideradas para evitar resultados confusos (García-Ruiz et al., 1994). Algunas de ellas son el grado y duración del periodo de desnutrición (en términos de periodos críticos); edad y sexo de los animales de experimentación debido a que la desnutrición temprana tiene efectos más severos en el organismo joven y el sexo sobre todo en hembras conduce a la presentación de conductas aberrantes vinculadas con el ciclo estral; la estimulación temprana en muchos casos puede revertir los efectos nocivos de la desnutrición (Franková, 1972; Tanabe, 1972); las interacciones maternas y sociales, la respuesta emocional que desarrollen, existen evidencias (Smart et al., 1973; Stern et al., 1975; Levitsky, 1979) de que los animales desnutridos presentan respuestas exageradas, debido a que los umbrales para provocar estados de alerta son más bajos que en los animales control; la complejidad o dificultad de la tarea a aprender ya que los efectos de la

desnutrición son más evidentes en tareas que involucren asociaciones complejas que en aquellas donde se intenten asociaciones simples (Levitsky, 1979; Galler y Mane, 1980; Rudy y Castro, 1990) y la motivación (vista como una necesidad de obtener más alimento), esto último relacionado con una alteración fisiológica en la asimilación eficaz del alimento o de la glucosa aún después de la rehabilitación nutricional (Hsueh et al., 1974; Wapnir y Lifshitz 1977).

HIPOCAMPO

Organización anatómica de la formación hipocámpica

La formación hipocámpica está constituida por una serie de estructuras interconectadas y relacionadas que son responsables del establecimiento y procesamiento de información vinculadas a la memoria. Este sistema incluye a dos tipos de corteza: la alo corteza o corteza primitiva y la perialo corteza. En ellas se incluye al parahipocampo cortical que rodea al hipocampo, la parte inferior a este es el área entorrinal la cual se considera la vía de salida de los impulsos neocorticales que se dirigen al hipocampo. En el vértice del parahipocampo, las capas celulares se fusionan para constituir el presubiculo, que se modifica en una sola capa celular para formar el subículo del hipocampo y constituye la primera porción del *córtex*. Después del subículo se encuentra el hipocampo (o *cornu ammonis*) contiguo al neopalio y al giro dentado (*fascia dentata*) y vecino a la cisura coroidea. Otras áreas periféricas son el parasubiculo y presubiculo (Fig. 2). La formación hipocámpica está dispuesta formando una estructura arqueada en la parte dorsomedial del hemisferio,

que se extiende desde el agujero intraventricular hasta la parte rostral de la prolongación temporal del ventrículo lateral

En mamíferos, el hipocampo está compuesto de tres partes; el subículo, el cuerno de Ammon, y el giro dentado. Su localización anatómica se ubica en el piso y la pared medial de la prolongación temporal del ventrículo lateral. En su desplazamiento hacia el lóbulo temporal, el hipocampo se pliega en torno a la cisura hipocámpica, lo que origina modificaciones en su estructura interna. Al iniciarse el desarrollo del neopallio, se establecen conexiones interhemisféricas masivas a través de la comisura anterior y del cuerpo caloso, el cual constituye la comisura neopallial mas importante. El desarrollo del cuerpo caloso produce modificaciones en la formación hipocámpica, el cual es desplazado, en parte, hacia la porción ventral del hilio hemisférico para quedar situado en el piso de la prolongación del ventrículo; el resto persiste sobre la superficie dorsal del cuerpo caloso (representado por el *indostium griseum* y los tractos mediales y laterales de *Lacisi*) y por delante de la lámina terminal donde se forma el rudimento prehipocámpico que constituye la parte anterior del hipocampo primitivo (área preolfativa).

El hipocampo además, se considera una estructura arquicortical prominente que constituye un complejo neuronal extenso en el cerebro de los mamíferos y se reconoce como una porción del sistema límbico. Posee una corteza trilaminar muy primitiva a nivel del giro dentado y del asta de Ammon, pero en el subículo hay una zona transicional hacia la corteza neopallial de seis capas.

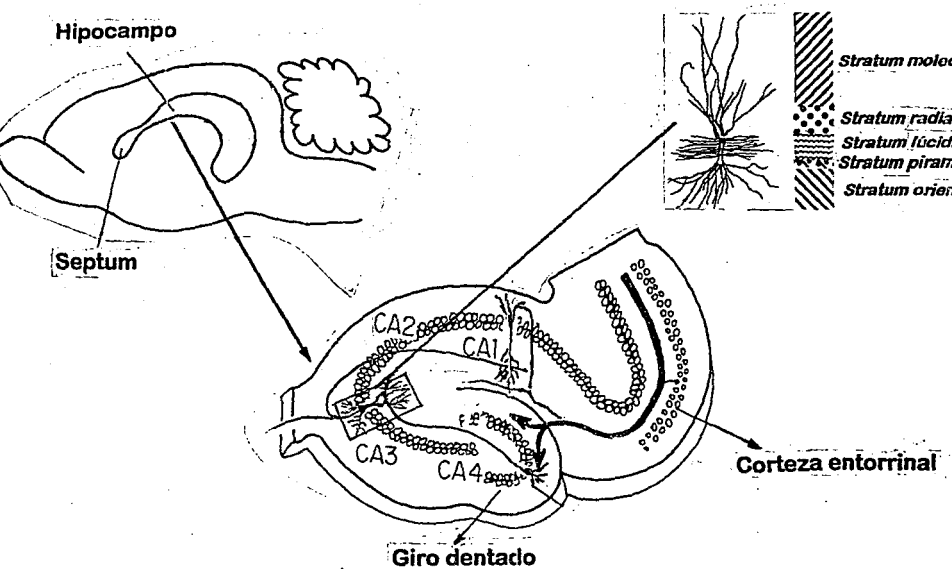


Fig. 2 Esquema que muestra la formación hipocámpica en sección horizontal en el cerebro de rata. Las células granulares (neuronas que caracterizan al giro dentado), mientras que las células piramidales representan a la mayoría de los subcampos CA del hipocampo. También se esquematiza la mayoría de las aferencias extrínsecas del giro dentado originadas en la corteza entorrinal que proyectan hacia los dos tercios de la capa molecular del giro dentado. Otras aferencias importantes de naturaleza colinérgica originan desde el septum hasta el hipocampo y giro dentado. Otras llegan en menor cantidad desde el locus coeruleus, raphe, hipotálamo y núcleo reuniens. Las células del giro dentado dirigen sus axones hacia el campo CA3 y CA4. Las neuronas del campo CA3 envían sus axones hacia el campo CA1 mientras que las CA4 proyectan de manera bilateral hacia células granulares, invirtiendo el resto del árbol dendrítico del giro dentado ipsilateral (fibras de asociación) y contralateral (fibras comisurales). En el extremo superior derecho se muestra una neurona típica del campo CA3 con sus estratos característicos

Citoarquitectura

Como todo el arquipalio, el hipocampo esta organizado en una corteza trilaminar muy primitiva presentando una zona de transición hacia la corteza neopallial a nivel del subículo, constituida de seis capas (López Antunez, 1986). Los elementos celulares que constituyen a la formación hipocámpica son principalmente tres: las células piramidales, las granulares y las interneuronas (musgosas y gabaérgicas). Las neuronas piramidales cuyo soma es de 20 a 40 μm se encuentran en todo el hipocampo presentando un árbol dendrítico corto; o bien, largo con algunas características distintivas entre ellas. Los somas de las neuronas granulares del giro dentado miden entre de 10 a 15 μm , con una o varias dendritas y sus axones se organizan en haces denominados fibras musgosas. Otro elemento constitutivo del hipocampo son las interneuronas diseminadas en toda la formación hipocámpica consideradas como células heterogéneas que proyectan hacia todas las células del hipocampo formando un plexo en cesta. Se consideran neuronas de circuito local o interneuronas aunque se tiene evidencia que algunas alcanzan áreas extrahipocámpales (ej. interneuronas del CA1 que proyectan hacia áreas septales, al núcleo accumbens, corteza retrosplenial e hipocampo contralateral (Lacaille et al., 1989). Las neuronas conocidas como células musgosas se distribuyen principalmente en la región hilar (Amaral, 1978) y aunque su morfología suele ser variada han podido reconocerse dos tipos de ellas, multipolares y fusiformes (Buckmaster et al., 1993). Otro elemento son las células gabaérgicas distribuidas

ampliamente en todo el hipocampo. Todas ellas se organizan en capas, o laminas denominadas estratos con las siguientes características (Fig. 3):

a) *alveus*, que en su mayor parte se constituye de sustancia blanca por donde cursan fibras aferentes provenientes de otras regiones así como axones de células piramidales del hipocampo,

b) *stratum oriens*, donde además de fibras aferentes y eferentes se hallan células en canasta y otras que dirigen sus axones a los estratos más profundos. Las dendritas basales de las neuronas piramidales forman un estrato que se distribuye horizontalmente por este estrato,

c) *stratum pyramidale* que contiene la mayor densidad neuronal formando una capa celular de 3 a 4 hileras de neuronas piramidales. Desde los estudios de Cajal en 1911 se sabe que este estrato podría corresponder a las capas 3 a la 5 de la neocorteza, algo colapsada y formando una sola capa en el hipocampo, sin embargo, Isaacson (1982) encuentra diferencias marcadas con las células piramidales de la neocorteza, ya que las piramides del hipocampo son consideradas como piramides dobles debido a que presentan un doble penacho de dendritas, uno dirigido hacia el estrato molecular y el otro hacia el alveus. Herrick (1926) propone que las neuronas dobles, características de la corteza reptiliana podrían constituir junto con el hipocampo la herencia de ancestros reptilianos primitivos,

d) *stratum radiatum* el cual concentra las arborizaciones de las dendritas apicales de las células piramidales, contiene en realidad pocas células y muchas

fibras provenientes desde varios puntos de origen. Cajal propuso que este estrato junto al *stratum lacunosum y moleculare* podría ser comparable con la capa mas externa de la neocorteza, es decir, la molecular,

e) *stratum lacunosum* consiste de muchas células esparcidas y un gran número de fibras. Corren paquetes largos de fibras, algunas originadas desde la región inferior del hipocampo y que llegan al subículo. Algunas de estas fibras son colaterales de las células piramidales. Otras fibras de origen desconocido entran al lacunosum desde la sustancia blanca (alveus) inferior y conducen procesos entre las células en la capa piramidal a las células en este estrato.

f) *stratum moleculare* es el más profundo y contiene las ramificaciones terminales de las dendritas apicales de las células piramidales, interneuronas y fibras que llegan al hipocampo desde el subículo y que corren paralelas y a corta distancia en dirección de este estrato (López Antunez, 1986; Walle, 1987; Issacson, 1982).

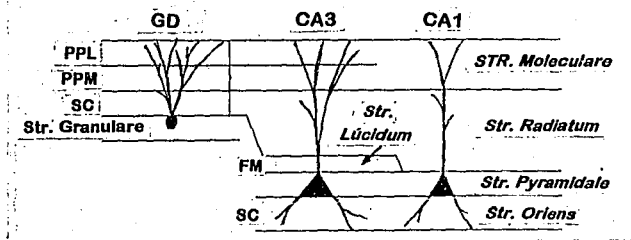


Fig. 3. Esquema que muestra los diferentes estratos del hipocampo y giro dentado, así como la distribución del sistema de aferencias entre ellos. SC, sistema de asociación comisural e ipsilateral; PPL, patrón perforante lateral; FM, patrón de fibras musgosas y PPM, patrón perforante medial (Zimmer J. 1978).

Subdivisiones del hipocampo

El hipocampo se ha dividido para su estudio en secciones hechas en ángulo recto al eje septo temporal. En cada sección dos subdivisiones grandes pueden encontrarse: la región superior y la inferior así nombradas por Cajal en 1894 (citado en Cajal, 1911) con base en sus características estructurales y de conexión. Lorente de Nó (1934) subdividió el asta de Ammon en varios campos llamándolos CA en donde se han calculado para la rata Sprague Dawley la presencia de 7.8×10^5 neuronas y 5.3×10^5 en la rata Wistar (Amaral et al., 1990). La parte superior del hipocampo corresponde al CA1, la región inferior es el CA3; una región pequeña entre el CA1 y CA3 es la designada como CA2. La región CA4 esta formada por una área pequeña la cual aparece en la transición del hipocampo y el giro dentado.

Según Amaral et al., (1990) el CA1 es un campo amplio con densidad celular menor (4.2×10^5). En el humano, las células piramidales se encuentran arregladas en dos capas, el estrato profundo y el superficial, aunque ambos se organicen por varias hileras de pirámides separadas una de otra (Braak, 1980). El CA2 se encuentra constituido por células piramidales adyacentes al CA1 y que pueden ser diferenciadas fácilmente del CA3 por la ausencia de espinas dendríticas muy especializadas localizadas en la dendrita proximal apical de estas últimas células. La cantidad de neuronas calculadas para este campo en la rata es de 12.4×10^5 células (Cassel, 1980 en Amaral, 1990). El campo CA3 lo constituye la agrupación bien organizada de células piramidales regularmente orientadas. Lorente de Nó (1934)

dividió al CA3 en tres zonas (a, b y c) con base en el número de colaterales de Schaffer originadas por estas células (Bayer, 1985). El número de células calculado para este campo es de 3.3×10^5 (Amaral 1990). El CA4 ocupa la parte superior del giro dentado y no muestra estratos ni arreglo u orientación definida (Break, 1980; Altman et al., 1973).

Citoarquitectura del campo CA3

El campo CA3 se caracteriza por presentar neuronas piramidales cromófilas y agrupadas densamente. Forma una curva hasta el fondo de la fisura hipocámpica obliterada. Las dendritas apicales de las células piramidales se extienden hacia la superficie de la pia de la fisura hipocámpica donde la capa plexiforme que la constituye se divide en tres capas diferentes. Próxima al estrato celular, en la cara inferior del estrato plexiforme se encuentra el área de "fibras musgosas", las cuales provienen de las células granulares del giro dentado. A dicha zona se le considera como estrato lúcido. Estas células proyectan colaterales axónicas hacia el estrato radiado (colaterales de Schaffer). Los últimos estratos (lacunoso y molecular) son designados como estrato plexiforme y corresponde a la zona de terminación de aferencias extrínsecas de la corteza entorrinal (Zimmer J.,1978) (Fig. 3).

Conexiones del Hipocampo

Aferencias

El hipocampo recibe impulsos del área entorrinal, de la región septal, del cíngulo y del hipocampo contralateral. La fuente más importante de aferencias lo constituye la corteza entorrinal formando así la vía perforante proveniente de la parte lateral de la corteza entorrinal. Algunas fibras del patrón perforante entran al estrato molecular del giro dentado directamente desde el subículo, mientras que otras viajan primero hacia el *stratum lacunosum moleculare* del CA1 y CA3. Del área septal proviene una contribución a través del fórnix. Desde la corteza del cíngulo llegan fibras a inervar al asta de Ammon y en parte a los subículos. Las fibras contralaterales pasan a la fimbria y después cruzan la línea media por la comisura hipocámpica (Fig. 4).

Eferencias

El hipocampo envía su información a través del fórnix, pasando primero por la fimbria al llegar a la parte caudal del hipocampo, es decir a nivel del cuerpo caloso. La mayoría de las fibras de la fimbria pasan a las columnas posteriores del fórnix, un pequeño número cruza la comisura hipocámpica y otras alcanzan la superficie dorsal del cuerpo caloso donde se incorporan las estrías mediales y laterales para formar el fórnix dorsal.

Así, el hipocampo además de sus relaciones comisurales, recibe impulsos de la corteza entorrinal, a la que le llega información de la corteza olfatoria primitiva.

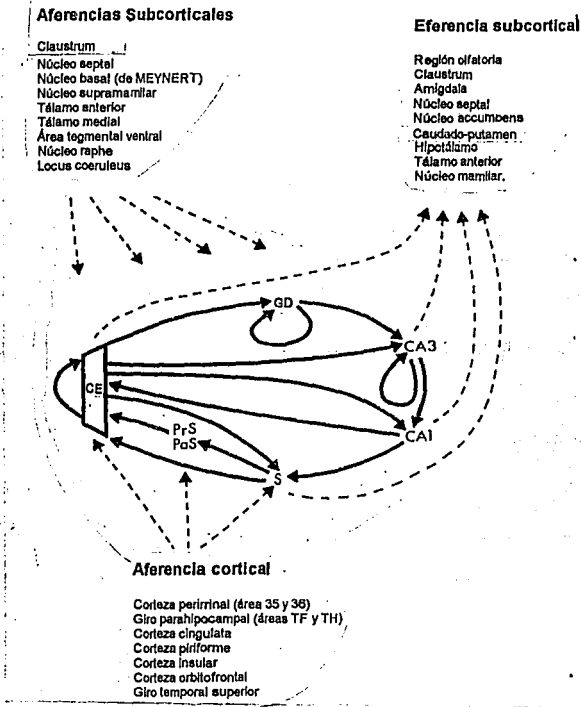


Fig.4. Esquema que ilustra la mayoría de las conexiones intrínsecas de la formación hipocampal así como la lista de las aferencias más importantes y conexiones eferentes. Las flechas curvas en el giro dentado (GD) y en el campo CA3 del hipocampo indican la presencia de proyecciones de asociación. Las líneas discontinuas representan aferencias provenientes del fórnix. (modificado de Paxinos 1990).

Se encuentra conectado en ambos sentidos con el cíngulo (mesocórtex), que le envía fibras por el fascículo del cíngulo y recibe impulsos por medio del núcleo anterior del tálamo al cual el hipocampo proyecta directamente a través del fórnix, o bien en forma indirecta a través de la vía fórnix-cuerpo fascículo-mamilar mámico-talámico.

Se relaciona en ambos sentidos con las áreas septales (a las que llega información de la estria olfatoria medial), a través del fórnix, y con el hipotálamo por medio de este mismo sistema. Asimismo, tiene conexiones con la formación reticular del tegmento mesencefálico por vía de la habénula o por medio del área mamilar del hipotálamo. En esta forma se establecen relaciones entre diferentes niveles neurales que se consideran dentro del sistema límbico: corteza medial, hipocampo, región septal, hipotálamo y formación reticular mesencefálica (Fig. 4). Estas relaciones constituyen el sustrato en el cual se organizan correlaciones funcionales viscerosomáticas que se citan como base de la integración emocional (Swanson, 1977).

En la organización intrínseca del hipocampo el circuito trisináptico hipocámpal ha sido implicado como un sustrato de la memoria, ya que la serie de sinapsis secuenciales permite la transmisión de la información por medio de diferentes componentes. Este circuito comienza en la vía perforante al enviar sus proyecciones de la corteza entorrinal a las dendritas de las células granulares en las dos terceras partes externas de la capa molecular del giro dentado. Las células granulares, por vía de las proyecciones axonales denominadas fibras musgosas, completan el límite proximal del circuito con las proyecciones apicales (zona de excrescencias) de las neuronas piramidales del campo CA3. Estas neuronas en turno, por vía de los axones colaterales de Schaffer, se dirigen hacia las células piramidales CA1 con las que completan el circuito trisináptico (Rosene y van Hoesen, 1991; Braintenberg, 1983; Buhl y Dann, 1991; Fig. 2).

En la porción proximal de las dendritas apicales se observan espinas gruesas formando el estrato lúcido. Estas porciones reciben una aferencia estrictamente ipsilateral de axones de células del giro dentado llamadas fibras musgosas. El resto de la superficie de las dendritas del campo CA3 se relacionan con terminales provenientes de la comisura y constituyen la vía de asociación entre el campo CA1 y el asta de Ammon. Varias subdivisiones del campo CA3 se conectan intrínsecamente por fibras comisurales y sus aferencias de asociación terminan siempre en el subcampo CA3 contralateral.

Ontogenia del hipocampo

La organización del hipocampo en la rata se origina por la migración del neuroepitelio subependimal localizado en los ventrículos laterales así como del tercer ventrículo (Altman, 1966). Las células muestran una ontogenia heterocrónica, es decir, no todos los elementos son originados en un mismo periodo de desarrollo embrionario. Así tenemos que las células granulares del giro dentado empiezan a generarse desde el día embrionario (E) 14 y su máxima proliferación se observa en el día postnatal (P) 3 y P10 prolongándose hasta la vida adulta (Bayer y Altman, 1974). Las neuronas piramidales son originadas prenatalmente aunque los tiempos de generación para cada campo son diferentes, pero se puede decir que la generación de piramides ocurre desde el día E14 al E20. De manera paralela las células piramidales de los campos CA3 y CA2 presentan un máximo de proliferación entre

el día E17 hasta el día E19. Una vez que han migrado a su campo definitivo las neuronas comienzan a expresar su arborización dendrítica en el día P10 y la continúan hasta el día P20. El patrón de generación para las neuronas CA1 es prenatal (E18 y E19) y su expresión dendrítica no se observa sino postnatalmente, en los días P5, P7, P15 y P20 cuando se completa su maduración.

La posición normal y definitiva de las neuronas piramidales CA3 esta sujeta a la conexión aferente oportuna establecida con las neuronas granulares del giro dentado aún antes de alcanzar su blanco definitivo en el campo 3 del *cornu ammonis*. Esta necesidad de conexión con otras neuronas del mismo hipocampo quizá explique la migración en pausas observada en estas células. Así la migración de las piramides del CA3 se detiene en la zona intermedia del CA1 en donde espera a conectarse con las aferencias del giro dentado. A este fenómeno se le conoce como migración estacionaria (Altman y Bayer 1990). Otro de los elementos celulares constitutivos del hipocampo son las células gabaérgicas y las células musgosas las cuales son generadas prenatalmente (E14 y E17) y su maduración en el caso de las primeras es paralela al de las neuronas piramidales (P5 y P20) y la maduración de las musgosas es similar al de las granulares (Seress y Ribak, 1993)

Funciones

Al parecer, las características de sus conexiones le dan sentido a las funciones atribuidas al hipocampo ya que las vías de asociación con áreas corticales así como

las conexiones directas e indirectas con otras estructuras límbicas (giro cingulado y núcleo septal en el hipotálamo) explican como el hipocampo participa en regulaciones somáticas, viscerales, endócrinas sensoriales. Debido a las conexiones neocorticales del hipocampo, desarrolladas durante la evolución de esta estructura, se le otorgan funciones vinculadas íntimamente con la capacidad del almacenamiento de datos a largo plazo. Asimismo, se considera al hipocampo junto con el sistema límbico como el coordinador determinante de la actitud del organismo ante su ambiente (Nauta y Feirtag, 1987). No obstante, su función es compleja y se reconoce como una estructura clave en funciones de atención, de comportamiento emocional y especialmente en los procesos de memoria y aprendizaje (Jarrad, 1968; Barnes, 1988; Cerbone et al., 1993). Por ejemplo, en experimentos donde se ha lesionado el hipocampo de ratas y simios se ha observado un síndrome amnésico profundo que se presenta inmediato al daño de esta estructura (Scoville y Milner, 1957; Olton, 1983; Squire y Zola-Morgan, 1983; Corkin, 1984; Zola-Morgan et al., 1986). En humanos su funcionamiento anormal revela ciertas formas de retraso mental, incluso se ha estudiado al hipocampo como modelo (ratas, monos y otros mamíferos) para explicar ciertas disfunciones cerebrales en el humano (Altman et al., 1973). La actividad eléctrica de espiga de las células del hipocampo esta fuertemente correlacionada con muchos aspectos del comportamiento espacial de la rata como es la posición, dirección de movimiento y velocidad del mismo. Por estos y otros estudios se refiere que el hipocampo forma la base neuronal de un mapa

cognitivo (Mc Naughton et al., 1983; Muller y Kubie, 1987; O Keefe, 1979; Olton, 1989).

Otra función vinculada con el hipocampo proviene de los estudios realizados a partir de la estimulación repetida de alta frecuencia de una vía aferente a una neurona induciendo así cambios a largo plazo en la comunicación sináptica. Esta característica propia del hipocampo se ha considerado como una forma de plasticidad llamada potenciación a largo plazo (LTP) y ha sido propuesta como el mecanismo de almacenamiento de información en el cerebro del mamífero (Andersen y Hvalby, 1986; Brown et al., 1988) apoyando aún más la propuesta de que el hipocampo participa en los procesos de aprendizaje y memoria (Douglas y Goddard, 1975; Teyler y DiScenna, 1987; Barnes 1988).

EL HIPOCAMPO COMO MODELO DE SISTEMA CEREBRAL

Debido a que el hipocampo es una estructura cerebral involucrada en la integración de funciones cerebrales complejas ha sido objeto de estudios fisiológicos anatómicos, bioquímicos y de plasticidad neural. Las ventajas que ofrece el hipocampo sobre otras regiones cerebrales para ser considerado un modelo de estudio neural en la rata desnutrida, son de manera general las siguientes: la estructura laminar bien conocida que facilita su estudio anatómico, sus conexiones con otras áreas cerebrales, las relaciones sinápticas localizadas geoméricamente, la morfología, localización y contenido de neurotransmisores de los diferentes

componentes neuronales que presenta y que facilitan su clasificación, y por último la heterocronia en su ontogenia de los diferentes tipos celulares que lo forman, algunos de los cuales son generados prenatal y otros postnatalmente (Sloviter 1989).

HIPOCAMPO Y DESNUTRICIÓN

Existen investigaciones donde se evalúan características fisiológicas y conductuales en relación con el hipocampo y en los diferentes momentos del desarrollo cerebral, su vulnerabilidad así como la consecuencia que tiene sobre ellos la desnutrición (Balázs et al., 1979; Lewis et al., 1979; Austin et al., 1986; Castro et al., 1989; Kats y Davies 1983; Bronzino et al., 1991; Morgane et al., 1992;). Como ya lo mencionamos, el hipocampo es un componente clave en la circuitería cerebral enlazando áreas neocorticales y del tallo cerebral inferior. Asimismo, el hipocampo posee un grado notable de desarrollo, plasticidad restaurativa y adaptativa, siendo estas razones suficientes para considerarlo como una estructura importante para el estudio de procesos cerebrales.

En estudios realizados con malnutrición prenatal valorando específicamente al hipocampo se han encontrado disminuciones de su capacidad plástica, específicamente en el giro dentado (Bronzino et al., 1991; Cintra et al., 1990 y Díaz-Cintra et al., 1991). Las células granulares son elementos de adaptación debido a que cuando se interfiere con su maduración, se reduce la capacidad de adaptación del animal a situaciones de estrés, por lo que es posible observar alteraciones en

respuestas conductuales de individuos sometidos a desnutrición perinatal (Altman, 1987).

Así, las alteraciones en la organización anatómica se les puede correlacionar con deficiencias en el aprendizaje y la memoria espacial provocadas tanto por desnutrición instalada en los periodos pre como postnatales (Jodan et al., 1982).

En trabajos desarrollados en el laboratorio, se ha encontrado que la desnutrición hipoproteínica prenatal en ratas reduce el área de los estratos molecular, granular y polimórfico del giro dentado, además de ocasionar alteraciones en la organización citoarquitectural de los campos CA1 y CA3 del hipocampo de ratas expuestas a desnutrición crónica y rehabilitación nutricional postnatal (García-Ruiz et al., 1993; Díaz-Cintra et al., 1994). Estas investigaciones indican que el efecto de la desnutrición sobre la formación hipocampal reduce la complejidad de la arborización dendrítica y altera el número de espinas y por lo tanto la conectividad sináptica (Cintra et al., 1990). La actividad celular en la producción de neurotransmisores también se ha valorado y en relación a la concentración de serotonina en el hipocampo se han encontrado incrementos del 100% en animales expuestos a desnutrición prenatal (Chen et al., 1992; Smart et al., 1976, Fuenmayor and García, 1984.). Más aún, en estudios electrofisiológicos y de concentración de neurotransmisores, se ha sugerido un incremento de la actividad inhibitoria del sistema modulador de las células del giro dentado por una desnutrición prenatal, posiblemente originada por incremento en la actividad funcional de las interneuronas

gabaérgicas, que pudiera ser resultado de alteraciones en los mecanismos de recaptura del GABA, o modificaciones en la actividad moduladora extra-hipocampal sináptica en las interneuronas gabaérgicas (Morgane et al., 1993). Proponiendo otra posibilidad los estudios de marcaje inmunocitoquímico y de distribución de células gabaérgicas, han mostrado alteraciones significativas en la densidad de estas células especialmente cuando se instala desnutrición hipoprotefínica crónica (Aguilar et al., 1994.).

Dada la participación que tiene el hipocampo en la adquisición y análisis de información sensorial (discriminación olfatoria y visual además de localización de señales medio ambientales), se han desarrollado paradigmas de aprendizaje en donde se sabe el hipocampo esta relacionado (Barnes, 1988, O'Keefe, 1983, Macrides et al., 1983). Cuando la desnutrición es impuesta crónicamente se alteran los procesos de atención provocando una inhabilidad relativa para procesar la información del medio ambiente (Hobson y Schmajuk 1988; Lynch y Cotman, 1975). Con la utilización de señales distales en el laberinto de navegación de Morris, en la discriminación espacial, en memoria a corto plazo (Castro y Rudy 1987 y Goodlett et al., 1986), así como con el condicionamiento Pavloviano (Smart, 1979) encontramos modelos de estudio importantes que nos ayudan en el conocimiento del hipocampo y la desnutrición. Los resultados muestran rendimientos inferiores en animales desnutridos pero sin descartar la posibilidad de la influencia de otras variables que pudieran conjugarse con la desnutrición y conducir a interpretaciones

confusas. Dentro del aprendizaje de evitación a estímulos nocivos tenemos el de prevención pasiva (Franková y Barnes, 1968; Smart y Dobbing, 1972; Lynch, 1976; García-Ruiz et al., 1994; Quirarte, 1995). En este modelo de aprendizaje, encontramos diversas características que lo sitúan como un método adecuado para evaluar procesos de almacenamiento y aprendizaje no sólo en el hipocampo sino también en otras estructuras cerebrales, sin contaminar los resultados por efecto sobre sistemas sensoriales, motores y motivacionales de índole apetitivo. Otras de sus características es que permite el establecimiento del aprendizaje en un tiempo definido, así como el estudio de diferentes etapas del proceso de aprendizaje y memoria. (Prado-Alcala y Quirarte, 1993).

Por todo lo expuesto anteriormente, se ha escogido para este trabajo un paradigma de desnutrición tal que permite privar sólo de proteína a los individuos conservando en cantidades normales los otros macronutrientes con lo que depuramos de variables nuestro modelo. La secuencia de interés en esta investigación se circunscribe a un periodo donde la circuitería y maduración neuronal se establece y afina, i.e., periodo postnatal (30 días) y además, prolongando dicha condición alimentaria hasta una edad considerada en la rata como adulto (90 días). Para la consecución de este trabajo se consideró al campo CA3 del hipocampo para conocer los efectos de la dieta hipoproteínica sobre algunos parámetros celulares capaces de indicar la magnitud del cambio citoarquitectural en este campo, así como por la

función atribuida al CA3 como principal integrador de la actividad hipocámpica. Al mismo tiempo y considerando que el hipocampo es uno de los sustratos neuronales subyacentes al aprendizaje y memoria espacial en la rata, se trabajó con el modelo de prevención pasiva el cual reúne las condiciones metodológicas necesarias para adjudicar el cambio en el aprendizaje a los cambios citoarquitecturales del CA3 como producto de la alteración en la dieta.

HIPÓTESIS

Si una dieta hipoproteínica instalada en el periodo postnatal produce alteraciones sobre el desarrollo de los sustratos anatómicos hipocámpicos, entonces algunas funciones inherentes a esta estructura tales como el aprendizaje y la memoria se verán deteriorados

OBJETIVO GENERAL

Valorar morfológica y conductualmente el efecto de la desnutrición postnatal sobre la formación hipocámpica en ratas de 30 y 90 días de edad.

ESPECIFICOS

1) Determinar los cambios morfológicos en las células piramidales del *Cornus Ammonis* 3 (CA3) del hipocampo en ratas de 30 y 90 días sometidas a una dieta hipoproteínica durante el periodo postnatal.

2) Evaluar la capacidad de aprendizaje en ratas malnutridas postnatalmente mediante la aplicación de una prueba conductual de prevención pasiva en las edades ya mencionadas.

MATERIALES Y METODOS

Animales

Se utilizaron ratas hembra y macho de la cepa Sprague Dawley de 250 a 300g de peso, criadas en el bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas. Se mantuvieron en condiciones de oscuridad-luz 12:12 horas, con temperatura de 22 a 24 °C, la humedad entre 40 a 50 %, comida y agua *ad libitum*. Las hembras fueron divididas en 2 grupos, uno alimentado con dieta hipoproteínica de 6% de caseína (desnutridas), y el otro con dieta estándar (Purina Chow) de 25% de la misma proteína -control- (Tabla I) durante 5 semanas antes del apareamiento para lograr una adaptación metabólica a la nueva dieta. Los machos empleados para este apareamiento fueron alimentados con dieta estándar (25% de caseína).

TABLA I

COMPOSICION DE LA DIETA (g/Kg)

	6%	25%
CASEINA	60.0	250.0
L-METIONINA	3.7	3.7
SUCROSA	511.74	381.72
FÉCULA DE MAÍZ	153.52	114.52
ACEITE DE MAÍZ	151.8	150.0
CELULOSA (FIBRA)	67.16	50.0
MEZCLA MINERAL	35.0	35.00
FOSFATO DE CALCIO DIBASICO (CaPO ₄)	6.02	
CARBONATO DE CALCIO (CaCO ₃)	0.73	5.06
MEZCLA DE VITAMINAS	10.0	10.0
COLOR PARA LA COMIDA	0.33	

Las dietas son formuladas como isocalóricas (4:4 Kcal/g) por adición de carbohidratos en la dieta baja en proteína. La caseína por ser baja en aminoácidos sulfurados, es suplementada con L-metionina.

Después de 5 semanas de adaptación a la nueva dieta, un macho alimentado con dieta estándar fue introducido a una caja de acrílico por cada 3 hembras. Los machos consumieron la dieta correspondiente al grupo al cual fueron asignados durante todo el periodo de apareamiento (10 días).

Una semana antes del nacimiento de las crías, las hembras preñadas fueron colocadas en cajas de acrílico con material adecuado para la elaboración del nido. Veinticuatro horas después del parto, las crías fueron redistribuidas aleatoriamente intercambiando las crías nacidas de madres alimentadas con dieta estándar y aquellas nacidas de madres desnutridas, para ajustar un total de 8 crías con cada madre, 4 hembras y 4 machos. Otro grupo de crías nacidas de hembras control (25%) permanecieron en la misma camada, ajustándose estas también a 8 crías. El destete se realizó a los 21 días postparto y las crías continuaron consumiendo la dieta correspondiente a su lote hasta el término del experimento (30 y 90 días).

Así se lograron crías de dos condiciones, una de desnutrición prenatal (6/25) - animales destinados para otro experimento- y otra con desnutrición postnatal (25/6) que fue la condición empleada en este estudio-, además de un lote control alimentado con dieta estándar (25/25; Fig. 5).

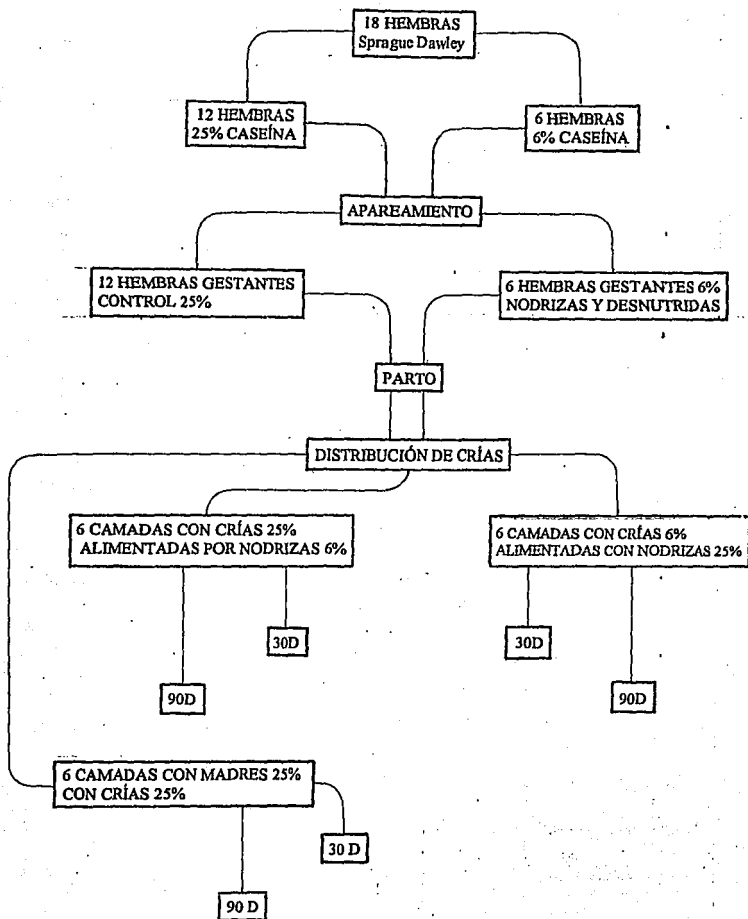


Fig. 5 Protocolo que incluye a los animales 25/25, 25/6 y 6/25 estos últimos no empleados en este estudio.

Procedimiento histológico

Al término de las edades establecidas de 30 y 90 días de edad, un total de 6 machos de cada una de las condiciones experimentales 25/6 y 6 controles (25/25) fueron pesados, anestesiados con pentobarbital (55mg/kg de peso) y perfundidos vía intracardiaca con formol al 10% neutro. Los cerebros fueron disecados al día siguiente de la perfusión y rabanados en secciones frontales de 4 mm de espesor aproximadamente, incluyendo la totalidad del hipocampo. El método de impregnación fue el modificado para Golgi rápido por Díaz-Cintra et al., (1981). Las secciones fueron embebidas en nitrocelulosa de diferentes concentraciones (5, 10, 15 y 30 %) durante 24 horas en cada cambio. Para su corte al microtomo de deslizamiento los bloques embebidos en nitrocelulosa al 30% fueron fijados a la platina con vapores de cloroformo por 12 horas. El plano de corte se realizó en sentido septo temporal, a 120 μ m de espesor cuidando la seriación de los cortes obtenidos. Cada preparación histológica de las diferentes edades y diseños experimentales fueron etiquetadas y codificadas con un número al azar con el fin de que las mediciones se hicieran a ciegas y de esta manera evitar sesgos de interpretación. De cada corte se eligieron neuronas piramidales del CA3 impregnadas completamente cuidando que el área de ubicación de estas células no saliera de los dos tercios anteriores del regio inferior conocido como subcampo CA3b, lo cual fue posible reconociendo la estructura morfológica privativa de estas

células en lo que se llama zona de excrecencias o de espiras torcidas de las dendritas apicales (Fig. 8). El total de neuronas observadas por cada animal fue de 6 en cada condición experimental y en cada una de las dos edades estudiadas, lo que hizo un total de 144 células observadas.

Análisis Morfométrico

De cada neurona CA3 bien impregnada y con la ayuda de un sistema digital de imágenes se obtuvieron las siguientes mediciones:

- 1) El perímetro, área, eje mayor y menor del soma, tomadas en un microscopio de campo claro Nikon Optiphot-2 y con un objetivo planapocromático de 40X (Fig. 6 A)
- 2) El área de excrecencias (delimitado en toda la extensión de la dendrita primaria y en la bifurcación) con objetivo planapocromático 40X (Fig. 6 A).
- 3) El número de dendritas apicales y basales para lo cual se elaboró una maqueta de 10 círculos concéntricos separados $38\ \mu\text{m}$ uno de otro con el sistema de imágenes, diseñados con base al método de Sholl (1956). Usando un objetivo planapocromático de 25X se determinó el número de dendritas que cruzaba cada círculo concéntrico (Fig 6 B).
- 4) La longitud de la dendrita apical principal. Este parámetro fue tomado desde el origen de la dendrita apical principal siguiendo su trayectoria bajo el objetivo planapocromático de 40X (Fig. 7).

5) El número de las espinas dendríticas fue medido en tres segmentos de 50 μm de diámetro generados en una maqueta en el procesamiento de imágenes. Los segmentos se ubicaron en la región proximal de la dendrita apical con el objetivo de 40X, la que además fue dividida en tres secciones. La sección S1 correspondió al número de espinas localizadas en el estrato lúcido en donde hacen sinapsis la mayor parte de fibras musgosas, las secciones S2 y S3 en cada uno de los brazos del árbol dendrítico ambos ubicados en la zona mas externa del mismo estrato (Fig. 8). El tamaño del soma, la longitud de la dendrita apical y la zona de excrecencias de las células piramidales fue delineado en el monitor de la computadora y con la ayuda del microscopio usando el cursor del análisis morfométrico. Todas las mediciones se obtuvieron digitalizando las imágenes y procesándolas con el programa *ad hoc* de Histo 2000 de Biocom.

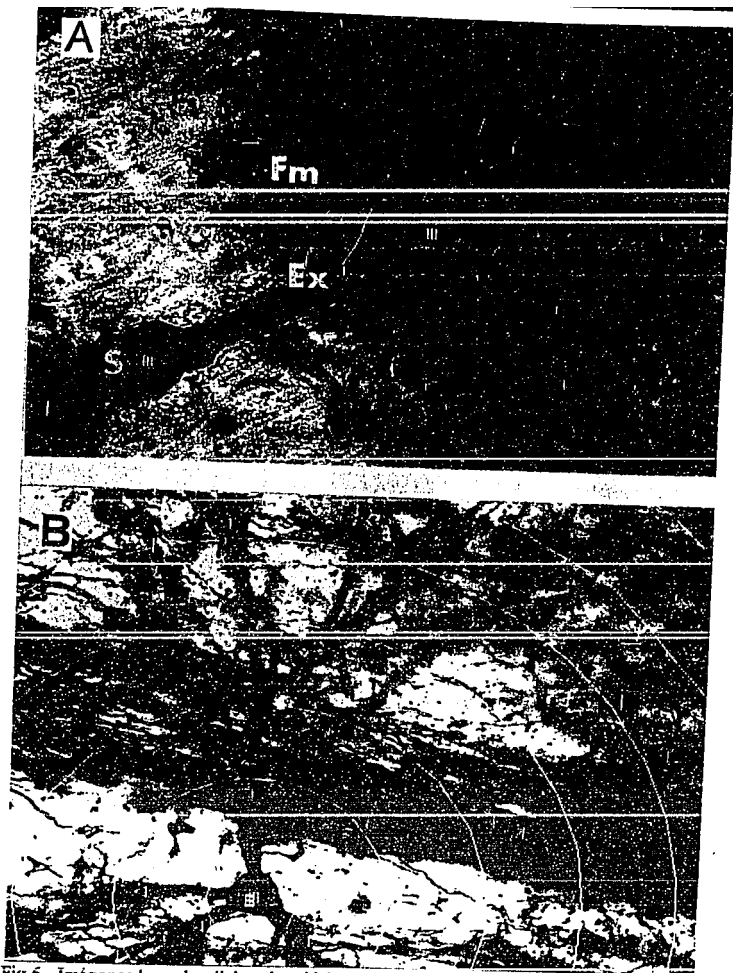


Fig 6 . Imágenes laser de células piramidales CA3. A, muestra la demarcación del perímetro del soma (S) así como la zona de excrecencias (Ex). FM, fibras musgosas (40 x). B, neurona CA3 señalando el método a través del cual fue cuantificada la densidad de dendritas apicales y basales 20x.

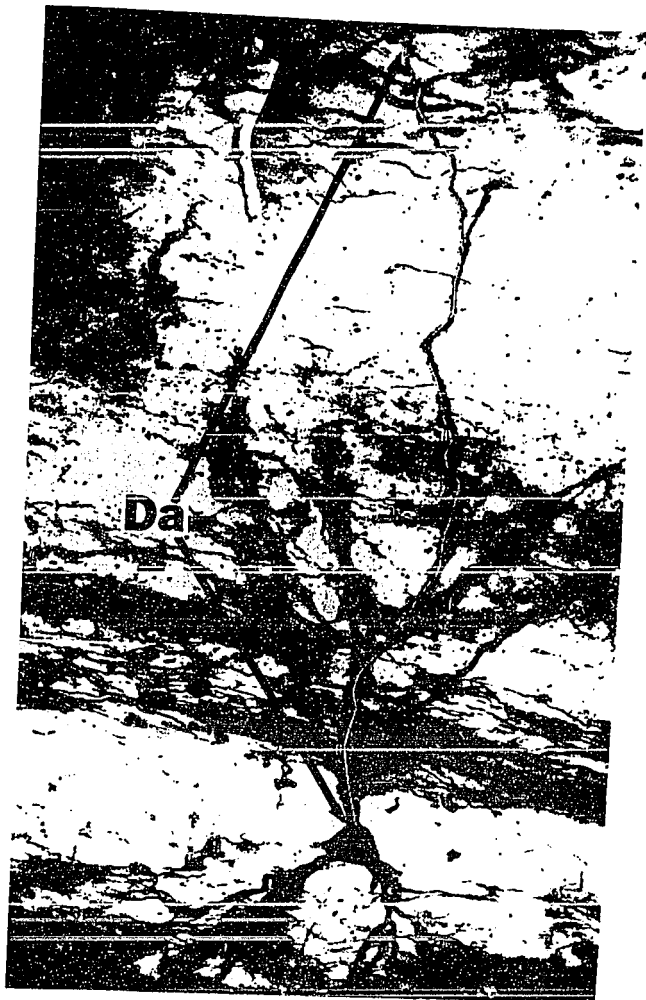


Fig 7. Se muestra la medición de la longitud de la dendrita apical (Da) realizada a través del sistema de imágenes (20 x).



. La densidad de espinas dendríticas de la neurona CA3 se obtuvo contando las espinas consideradas en segmentos de 50 μm ca S1, S2 y S3 (40x).

Entrenamiento en la tarea de prevención pasiva

La condición de desnutrición explicada anteriormente fue la misma para los animales destinados para la prueba de aprendizaje. Se utilizaron un total de 20 animales macho de la edad de 30 días (10 malnutridos postnatalmente y 10 alimentados con dieta normal) y un total de 20 de la edad de 90 días (siguiendo la misma proporción que en la edad anterior). Una vez destetados los animales (a los 21 días de edad) fueron colocados por separado, en una caja de acrílico y alimentados con la dieta correspondiente a su condición experimental hasta alcanzar las edades de 30 ó 90 días.

El entrenamiento en la tarea de prevención pasiva se efectuó tanto a los animales desnutridos como a los controles. En esta prueba, el sujeto aprende a evitar un estímulo desagradable nociceptivo dejando de hacer algo. La conducta se adquiere en un solo ensayo. El entrenamiento se realiza en una cámara de dos compartimientos separados por una puerta deslizable. Uno de ellos se conoce como compartimiento de "seguridad", el cual además de estar más iluminado, las características del piso son diferentes a las del otro compartimiento llamado de "castigo" que es oscuro. El piso de este último tiene 2 placas metálicas colocadas en forma de V por donde puede pasarse corriente eléctrica.

Para iniciar la única sesión de entrenamiento se colocó al animal en el compartimiento de seguridad durante 10 segundos; una vez transcurridos se abrió la compuerta que separa ambos espacios. Dada la conducta exploratoria de las ratas

que las lleva a explorar nuevos ambientes, además de ser fotofóbicas (Prado-Alcala et al., 1993), estas tienden a pasar al otro compartimiento; el tiempo que tardan en hacerlo fue registrado y es el parámetro llamado latencia de adquisición. Una vez que ha pasado, se cierra la compuerta y se aplica a través de las placas metálicas electrificado un choque eléctrico de 2 mA durante 5 segundos en las patas, inmediatamente después se abre de nuevo la puerta, permitiendo huir a la rata al compartimiento de seguridad y el tiempo que tarda en regresar al espacio de seguridad fue registrado como latencia de huida. En este espacio iluminado permanece 30 segundos con el fin de que asocie este lugar como un sitio que lo mantiene protegido del evento nocivo (Fig. 9). De ahí la rata se trasladó a su jaula de estancia.

Después de 24 y 48 horas y 7 días de la sesión de adquisición se efectuaron las pruebas de retención. En esta prueba de retención se colocó a la rata en el compartimiento de seguridad y transcurridos 10 segundos, se abrió la compuerta para permitir el acceso al compartimiento de castigo. El tiempo que emplearon cada uno de los animales en pasar a este compartimiento fue cronometrado. Si después de 600 segundos el animal no pasaba al compartimiento de castigo se daba por concluida la sesión y el sujeto era devuelto a su caja de estancia, considerándose, en este caso como tarea aprendida.

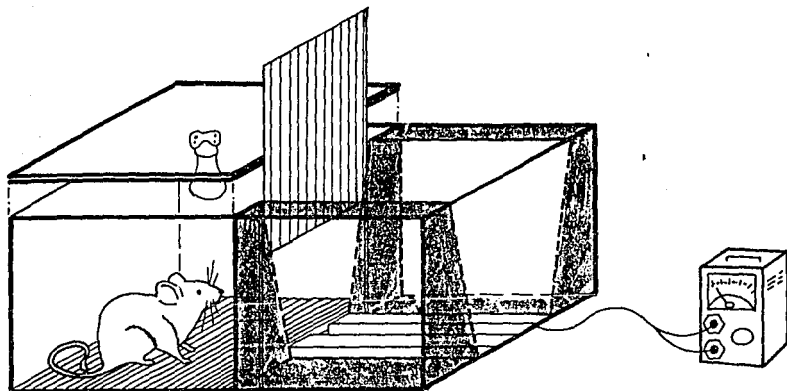


Fig. 9 Cámara de condicionamiento de prevención pasiva. El compartimiento de seguridad se encuentra en el lado izquierdo del esquema y el estimulador a la derecha.

Análisis estadístico

Estudios neuroanatómicos

Una vez terminados los estudios neuroanatómicos se aplicaron las siguientes pruebas:

- a) Un ANOVA de un factor para determinar las posibles variaciones entre los grupos.
- b) Una prueba de Tukey para discernir cuales pares de grupos difirieron significativamente y
- c) Un ANOVA de dos factores con el objetivo de averiguar si hay un efecto combinado por la dieta y la edad. Los niveles de significancia empleados fueron a una probabilidad <0.05 , <0.01 y <0.001 .

Entrenamiento en prevención pasiva.

Para la tarea de prevención pasiva se realizó un análisis estadístico con pruebas no paramétricas. Se compararon las medianas de las latencias de adquisición, de escape, así como las de retención a las 24, 48 horas y 7 días después de la adquisición a través de análisis de varianza de Kruskal-Wallis y para conocer las diferencias entre parejas de grupos se utilizó la prueba de U de Mann-Witlney, con un nivel de significancia de $p<0.05$. La prueba de Friedman se aplicó para explorar las posibles diferencias entre las latencias a través de las diferentes sesiones de retención de cada grupo (grupos correlacionados), seguido de la prueba de Wilcoxon para establecer las diferencias significativas entre pares de grupos correlacionados.

RESULTADOS

Peso corporal y cerebral

En la tabla II se muestran los pesos corporal y cerebral de los animales controles y desnutridos de 30 y 90 días de edad. La desnutrición postnatal produjo las reducciones significativas ($p < 0.05$) del 70% en el peso corporal en los animales de 30 días y del 83% ($p < 0.05$) en los animales de 90 días. El peso cerebral se redujo también significativamente ($p < 0.05$) en un 19% en los animales de 30 días y en un 30% en los animales de 90 días de edad en relación a su control.

TABLA II

Pesos corporal y cerebral de ratas Sprague Dawley control (C) y desnutrido (D)

* $p < 0.05$

	30 días		90 días	
	C	D	C	D
Peso corporal	74.0 g	22.0 g *	256.0 g	44.0 g *
Peso cerebral	1.6 g	1.3 g *	2.3 g	1.6 g *

Morfometría

En la Tabla III se concentran los resultados analizados con el ANOVA de dos factores tanto de aquellas mediciones que resultan significativamente afectadas por la dieta, como por la edad o por la interacción de ambas variables.

El ANOVA no marcó diferencia significativa ni por la edad ni por la dieta, sin embargo, se encontró interacción significativa entre los dos factores, en el perímetro, área y el eje menor del soma. Por lo que respecta a la influencia que la edad produce sobre la morfología celular de las células piramidales del CA3 se observaron cambios significativos en la longitud de la dendrita apical, en el área de la zona de excrecencias y en la densidad de ramas dendríticas apicales en los círculos 3, 4, 5 y del 7 al 10 y de las dendritas basales en el círculo 3. El efecto que la dieta produce en estos parámetros celulares se localizaron en: la longitud de la dendrita apical, en el perímetro y área de excrecencias, en la densidad de las ramas apicales entre los círculos 2, 5 al 10 y en dendritas basales en los círculos 1 al 6. El efecto significativo de las interacciones entre estos dos factores (dieta y edad) se ubicó en el perímetro, área, eje menor del soma, la longitud de la dendrita apical, en el perímetro y área de la zona de excrecencias, en la densidad de las dendritas apicales en los círculos 6 al 9.

En relación con el número de las espinas dendríticas se observó un efecto tanto por la edad, por la dieta y por la influencia de ambas siendo altamente significativa dicha interacción ($p < 0.001$).

TABLA III

Análisis estadístico de las células piramidales CA3 del hipocampo en edades de 30 y 90 días, desnutridos prenatalmente.

ANOVA de dos factores (condición nutricional y edad)

* p < 0.05, ** p < 0.01 y *** p < 0.001.

	Edad df (1,131)	Dieta df (1,131)	Interacción df (1,131)
Soma			
Perímetro	0.05	0.02	5.10 *
Área	0.21	0.33	6.53 *
Eje mayor	0.46	0.002	3.41
Eje menor	0.85	1.40	6.10 *
Long. dendrita apical	12.39***	5.87*	6.99 **
Excrescencias			
Perímetro	0.42	37.64 ***	0.04 *
Área	26.4 ***	15.77 ***	35.05 ***
Dendritas apicales (intersecciones)			
Circuitos			
1 (38 µm)	0.97	1.10	0.673
2 (76 µm)	0.8	4.93*	0.067
3 (114 µm)	5.14 *	1.25	0.201
4 (152 µm)	15.50 ***	3.25	1.46
5 (190 µm)	26.68***	56.24***	0.361
6 (228 µm)	31.34	62.61***	4.975 *
7 (266 µm)	27.84 ***	91.78***	15.914 ***
8 (304 µm)	13.03 ***	55.82***	11.855 **
9 (342 µm)	7.118.**	39.65***	6.863.*
10 (380 µm)	3.9 *	25.21***	2.351
Dendritas basales (intersecciones)			
Circuitos			
1 (38 µm)	0.03	11.73**	2.04
2 (76 µm)	1.47	14.03***	0.273
3 (114 µm)	13.60***	21.38**	0.885
4 (152 µm)	2.13	18.49***	1.365
5 (190 µm)	0.59	11.90**	0.907
6 (228 µm)	0.29	5.12*	0.60
7 (266 µm)	1.53	1.16	0.350
Espinas			
segmento 1 (50 µm)	16.75 ***	458.01***	5.33 *
segmento 2 (50 µm)	16.52 ***	311.39 ***	13.20 ***
segmento 3 (50 µm)	6.12 *	359.13 ***	6.30 *

En la tabla IV se muestra el ANOVA de una vía y la comparación entre edades con la prueba de Tukey de los efectos por la dieta. Las diferencias significativas se observaron en parámetros celulares relacionados con el establecimiento normal de las características funcionales de estas células, como son

la sinaptogénesis (espinas dendríficas y área de excrecencias) y la longitud de la dendrita apical.

TABLA IV

Análisis estadístico del efecto de la malnutrición postnatal en las neuronas piramidales CA3 (ANOVA de un factor / Prueba de Tukey).

Comparación entre edades $p < 0.05$.

Sólo se indica el porcentaje de cambio en el caso de existir significancia

	30 vs. 90 c	30 vs. 90 d
Soma		
Perímetro		
Área		
Eje mayor		
Eje menor		
Long. dendrita apical	-27.55 % *	
Excrecencias		
Perímetro		
Área	-48.31 % *	
Dendritas apicales (intersecciones)		
Círculos		
1 (38 μm)		
2 (76 μm)		
3 (114 μm)		
4 (152 μm)		+36.12 % *
5 (190 μm)		+34.77 % *
6 (228 μm)		
7 (266 μm)		
8 (304 μm)		
9 (342 μm)		
10 (380 μm)		
Dendritas basales (intersecciones)		
Círculos		
1 (38 μm)		
2 (76 μm)		
3 (114 μm)		-26.53 % *
4 (152 μm)		
5 (190 μm)		
6 (228 μm)		
7 (266 μm)		
Espinas		
segmento 1 (50 μm)	-14.5%	
segmento 2 (50 μm)	-18%	
segmento 3 (50 μm)	-12%	

Al comparar estadísticamente las edades en términos de porcentaje de cambio (ANOVA de un factor y prueba de Tukey con $p < 0.05$), observamos (Tabla IV) que

las mediciones correspondientes al soma, perímetro, área, eje mayor y menor, no son diferentes tanto en el grupo control como en el desnutrido.

Se observaron disminuciones del 11% ($p < 0.05$) en el área celular (Fig. 10) en los animales desnutridos de 30 días de edad y en el eje menor (Fig. 11) reducción del 8% ($p < 0.05$). La longitud de la dendrita apical (Fig. 12) se redujo en un 25% en relación a su control a la edad de 90 días. La zona de excrecencias expresada en términos del perímetro (Fig. 13) disminuyó en animales malnutridos de 30 días en un 34% y en los animales de 90 días en un 19% al ser comparados con sus respectivos controles. La zona de excrecencias expresada en área (Fig. 13) mostró reducciones del 46% en animales desnutridos de 30 días y del 61% para los desnutridos de 90 días.

La densidad de dendritas apicales se muestra en la figura 14 en donde se pueden observar decrementos significativos ($p < 0.05$, 0.01 y 0.001) desde un 20 a un 89% en el número de intersecciones en animales malnutridos de 30 días de edad a partir del círculo 5 ($p < 0.001$). Estos decrementos fueron en los círculos 5, 6, 7, 8, 9 y 10 del 38%, 56%, 76%, 88% y 89% respectivamente. En el círculo 2 observamos un incremento significativo del 88%. En animales de 90 días de edad observamos sólo un incremento del 34% en el grupo malnutrido esto en el círculo 2, pero esta situación se invirtió a partir del círculo 4 hasta el 10, estos decrementos corresponden al 24%, 55%, 72%, 82%, 84%, 86% y del 94% respectivamente.

SOMA

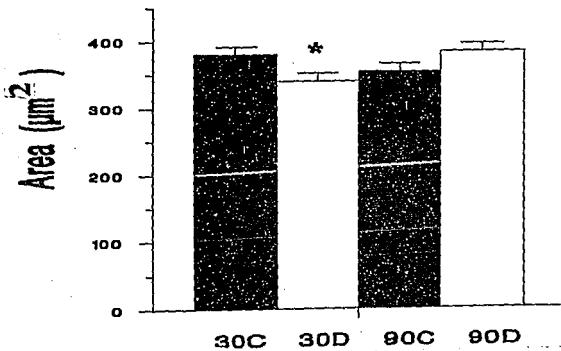
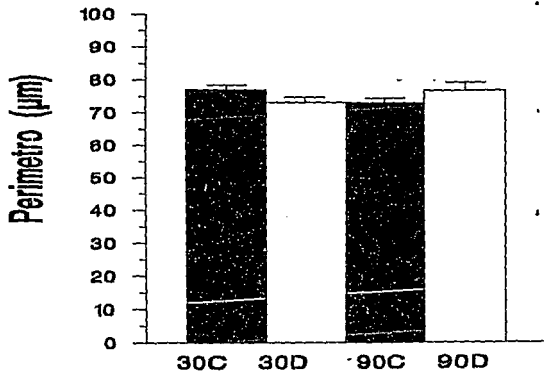


Fig. 10. Mediciones de perímetro y área de neuronas piramidales del campo CA3 en donde la diferencia significativa ($p < 0.05$) se observa en el área de animales de 30 días. 30C, ratas control de 30 días; 30 D, ratas desnutridas de 30 días; 90 C, ratas control de 90 días y 90 D, ratas desnutridas de 90 días.

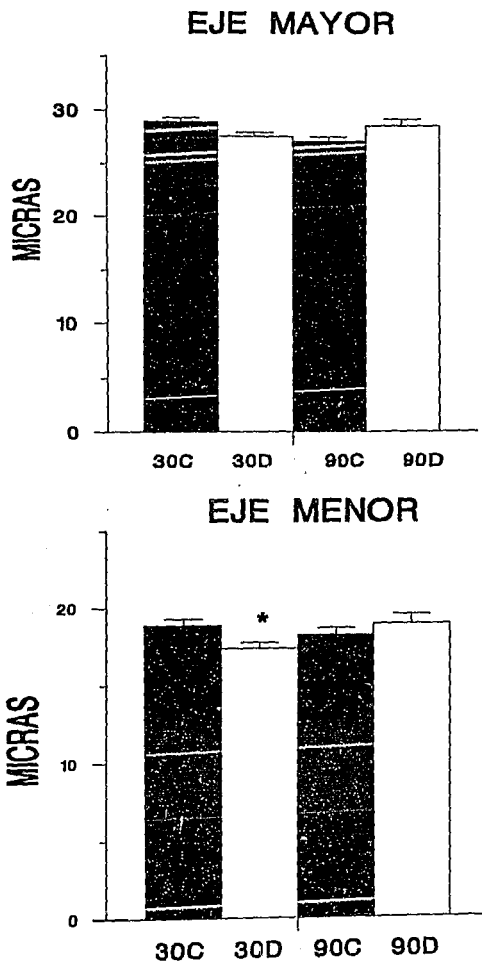


Fig 11. Mediciones del eje mayor y menor de las neuronas CA3. Solo existe diferencia significativa en el eje menor de ratas de 30 días desnutridas ($p < 0.05$).

DENDRITA APICAL

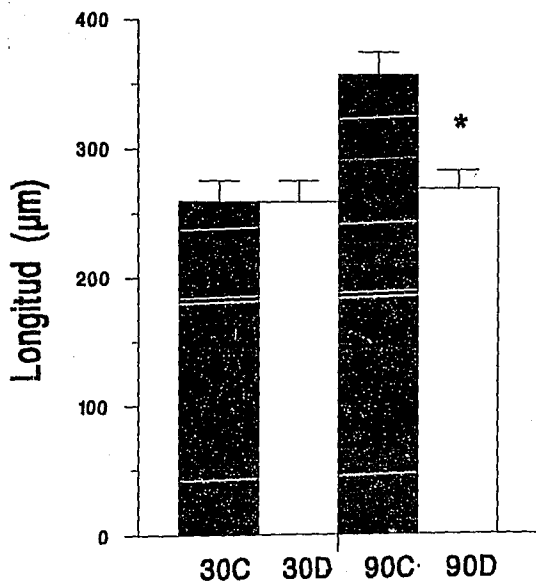


Fig. 12. La longitud de la dendrita apical se observa afectada por la desnutrición postnatal sólo en los animales de 90 días de edad ($p < 0.05$).

EXCRECENCIAS

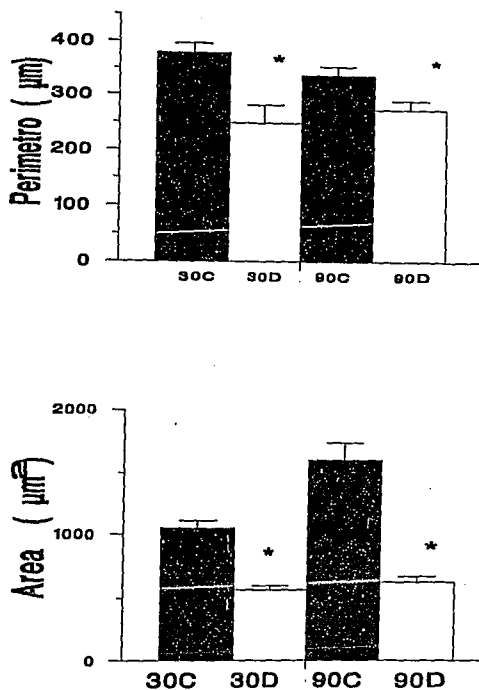


Fig. 13 La zona de excrecencias se observa disminuída en el perímetro y el área de las dos edades estudiadas ($p < 0.05$).

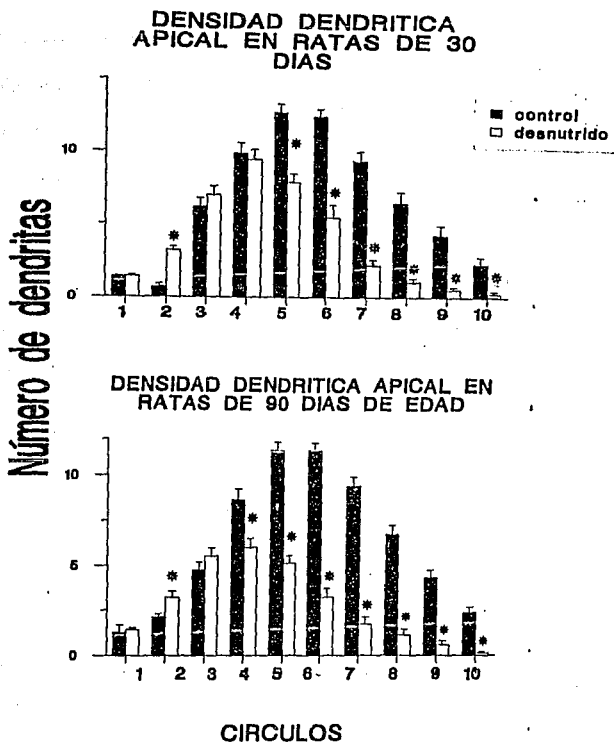
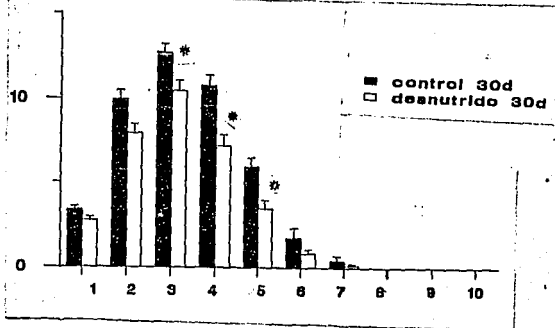


Fig. 14. La densidad de dendritas apicales se observa disminuida por la desnutrición postnatal especialmente en los últimos 5 círculos concéntricos en ambas edades ($p < 0.05$). Sin embargo, el círculo 2 mostró incremento en ambas edades.

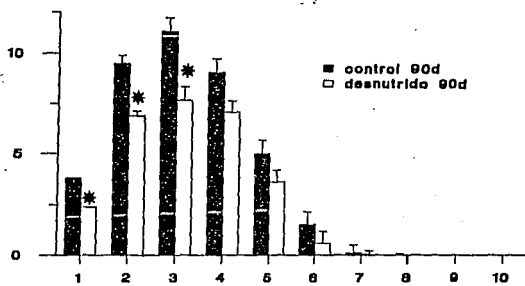
Las dendritas basales (Fig. 15) del grupo de 30 días malnutrido mostró reducciones significativas ($p < 0.05$ y $p < 0.001$) en los círculos 3, al 5 del 17%, 33% y 41%, respectivamente. Las mismas intersecciones dendríticas en los animales de 90 días malnutridos (Fig. 15) muestran disminuciones ($p < 0.01$ y 0.001) en los círculos 1, al 3 del 38%, 27% y 30%, respectivamente.

El número de espinas dendríticas fue medido en tres segmentos de la dendrita apical de la neurona piramidal CA3 correspondiente a la zona conocida como de excrecencias. El efecto que tiene la desnutrición sobre el número de espinas dendríticas puede verse en la tabla III en donde observamos que la dieta, la edad y la interacción resultaron altamente significativos ($p < 0.001$). Al comparar el grupo de animales de 30 contra el de 90 días, los cambios por la edad (ANOVA de un factor y prueba de Tukey con $p < 0.05$) indicaron incrementos en el número de las espinas dendríticas del 15%, 18% y 12% en los segmentos 1, 2 y 3 respectivamente (Tabla IV). El grupo desnutrido no mostró diferencia significativa en la densidad de espinas en ninguno de los 3 segmentos estudiados. La desnutrición produjo decrementos en la densidad de espinas dendríticas en las 2 edades estudiadas en los 3 segmentos de la dendrita apical (Fig. 16), estos fueron: en el segmento 1 del 51% en 30 días y 54% en 90 días; en el segmento 2 del 43% y 53% respectivamente y en el segmento 3, las reducciones fueron del 44% y 51% respectivamente.

DENDRITAS BASALES DE RATAS DE 30 DIAS DE EDAD



DENDRITAS BASALES DE RATAS DE 90 DIAS DE EDAD



CIRCULOS

Fig. 16 b. La desnutrición postnatal afecta la densidad dendrítica basal sólo en los círculos 3 al 5 que corresponde principalmente al estrato oriens ($p < 0.05$) a la edad de 30 días y a la de 90 días en los círculos 1 al 3, afectando principalmente el estrato alveus.

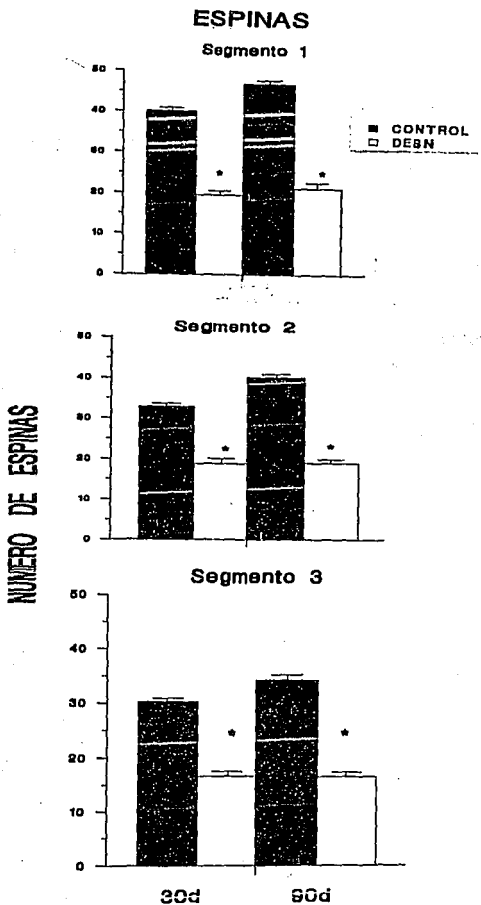


Fig. 17. El efecto de la desnutrición postnatal sobre las espinas dendríticas de la zona de excrecencias se observa significativamente disminuido en más del 44% ($p < 0.05$) en los 3 segmentos analizados.

Entrenamiento por prevención pasiva

Los resultados de la prueba de prevención pasiva expresados en latencias de adquisición, huida y retención a las 24 y 48 horas y 7 días se muestran graficados en medianas.

Adquisición

En la latencia de adquisición observamos diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los grupos control de 30 días vs. 90 días y en el grupo desnutrido de 30 días vs. el control de 90 ($p < 0.005$). El resto de las comparaciones resulto sin diferencia significativa.(Fig. 17).

Huida

El resultado de la prueba de Kruskal-Wallis nos indicó diferencia significativa en la latencia de huida (Fig. 17). Con la prueba de Mann-Whitney encontramos que estas diferencias se encontraban entre los pares de grupos control de 30 días vs. desnutrido de 30 días ($p < 0.05$); entre el grupo control de 30 días vs. control de 90 días ($p < 0.05$) y desnutrido de 30 días vs. control de 90 días ($p < 0.005$).

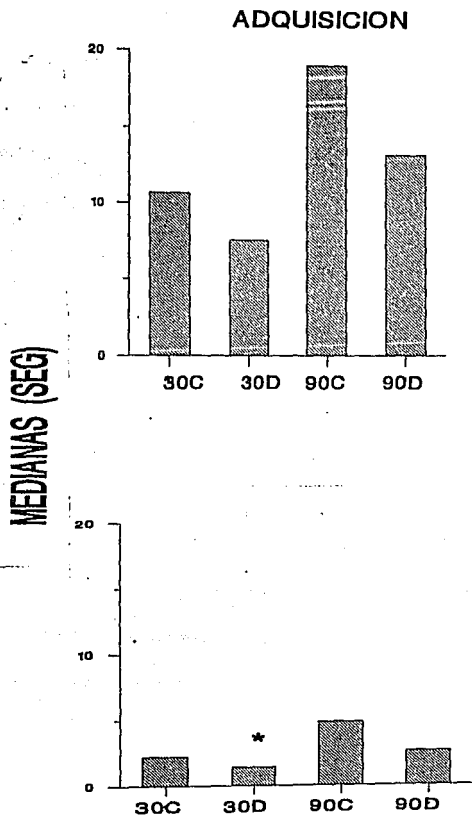


Fig. 18 Latencias de adquisición y huida de animales de 30 y 90 días control y desnutridos postnatalmente.

Retenciones

La prueba de Kruskal-Wallis nos indicó diferencia significativa entre las latencias de retención a las 24 y 48 horas, así como a los 7 días de la adquisición. La aplicación de la prueba de Mann-Whitney nos indicó que los pares de grupos con diferencia significativa en la retención a las 24 horas (Fig. 18) son el grupo de 30 días control vs. el desnutrido de la misma edad ($p<0.05$); el grupo de 90 días control vs. el desnutrido de 90 días ($p<0.05$); y el grupo de 30 días desnutrido vs. el control de 90 ($p<0.05$) así como con el desnutrido de 90 días ($p<0.05$). En la retención a las 48 horas los pares de grupos con diferencia significativa fueron el grupo control de 30 días vs. el desnutrido de la misma edad ($p<0.05$); también entre el desnutrido de 30 días desnutrido vs. el control de 90 días ($p<0.005$) y finalmente entre el desnutrido de 30 días contra el desnutrido de 90 días ($p<0.05$). La retención a los 7 días muestra diferencias significativas entre el grupo de 30 días control vs. el desnutrido de la misma edad ($p<0.05$), entre el grupo desnutrido de 30 días vs. el control de 90 días ($p<0.05$) y entre el desnutrido de 30 días vs. el desnutrido de 90 días ($p<0.05$).

Las pruebas estadísticas de grupos correlacionados (Prueba de Friedman y Wilcoxon) nos mostraron cambios significativos en el grupo de animales de 90 días control, en donde se encontró que la latencia a las 24 horas es significativamente diferente a la de 48 horas y 7 días después de la prueba de adquisición ($p<0.02$ y $p<0.014$).

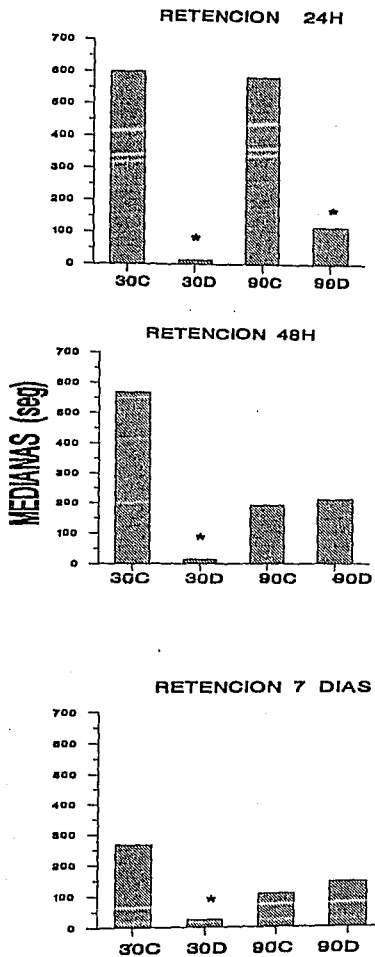


Fig. 19. Retenciones obtenidas a las 24, 48 horas y 7 días después de la sesión de adquisición de animales control y desnutridos de 30 y 90 días de edad.

DISCUSION

Peso corporal y cerebral

La desnutrición hipoproteínica, instalada desde el momento del nacimiento hasta los 30 y 90 días de edad produce reducciones importantes tanto en el peso corporal como en el cerebral. Cuando se compararon los pesos entre los 30 y 90 días se encontró aumento directamente proporcional en los animales bien nutridos mientras que en aquellos malnutridos el incremento fue inferior ($p < 0.05$) en ambas edades estudiadas.. Existen múltiples investigaciones que muestran claros efectos sobre el peso corporal y cerebral al imponer una desnutrición postnatal, pero la manera de explicar esta diferencia generalmente se basa en tres puntos diferentes. 1.- Al instalarse una desnutrición postnatal en la rata aparentemente ésta no es capaz de afectar la población celular diferenciada antes del nacimiento, pero sí puede alterar y distorsionar el proceso normal de maduración celular, lo que se traduce en modificaciones en la organización y complejidad citoarquitectural cerebral (Dobbing, 1984; Cragg, 1972). 2. Otra propuesta contempla los estudios con desnutrición temprana donde se observan claramente disminuciones en el número de neuronas en regiones cerebrales específicas que tienen desarrollo celular tardío como el cerebelo y la formación hipocámpal (Paula-Barbosa et al., 1989; Bedi, 1991; Ahmed et al., 1987; Lewis et al., 1979). La pérdida en la densidad celular se reflejaría tanto en el peso cerebral de regiones específicas como en la totalidad del peso cerebral. 3.- La siguiente posibilidad implica a otro elemento constitutivo del

tejido nervioso, la glía que en un porcentaje elevado forma parte del tejido cerebral, así, aunque el número total de neuronas no decrece, sí el número de células gliales (Leathwood, 1976). De un modo adicional, si esta deficiencia glial implica a los oligodendrocitos, entonces las alteraciones se traducen en la mielinogénesis asociada a la cantidad y cualidad de la mielina (Winick, 1970; Krigman y Hogan, 1976; Wiggins et al., 1976), siendo vulnerable durante el periodo perinatal por tener influencia directa sobre la organización normal del tejido nervioso (Krigman y Hogan, 1976; Dobbing, 1964).

Neuroanatomía

Se sabe que los cambios en la estructura cerebral dependen de la duración y la intensidad del daño nutricional, así como del estado de desarrollo cerebral en el cual es instalado el daño. Asimismo, el SNC es el más afectado por la deficiencia nutricional cuando este se relaciona al periodo de desarrollo cerebral rápido.

Así, en este trabajo, los resultados en las mediciones neuroanatómicas muestran efectos en la organización y desarrollo provocados por una malnutrición postnatal específicamente sobre el factor de forma celular mostrando una célula piramidal CA3 más pequeña y alargada a los 30 días de edad, lo anterior es apoyado por las mediciones en el área y en el eje menor. Sin embargo, a la edad de 90 días, la célula piramidal CA3 no presenta alteraciones en su morfología por efecto de la dieta lo que nos sugiere que el soma alcanza cierta recuperación desencadenada por

una plasticidad neuronal que iguala a las dimensiones normales del soma a los 90 días.

El patrón de desarrollo neuronal también resulta alterado por la malnutrición postnatal, ya que los animales de 90 días de edad mostraron disminuciones del 28% en la longitud de la dendrita apical, lo cual tiene relación con la edad y el tipo de desnutrición a la que fueron sometidos estos animales, según el ANOVA de dos vías, además de que la interacción entre estos factores parece sumarse y afectar dicho patrón de desarrollo. Al valorar que los patrones temporales de neurogénesis son antecedentes valiosos para el establecimiento de interconexiones en el desarrollo cerebral (Bayer, 1985) la dendrita apical a los 90 días después de la desnutrición postnatal no alcanza la maduración esperada y promovida por la llegada de aferencias (fibras septales, comisurales y musgosas) o bien por aquellos factores de crecimiento neural encargados de promover el desarrollo y elongación normal de la dendrita apical. Esta situación no se observa en trabajos donde se emplea desnutrición crónica y en la rehabilitación nutricional postnatal donde la exposición de esta parte del desarrollo y maduración celular se muestra refractaria hasta los 90 días de edad (García-Ruiz et al., 1993; Díaz-Cintra et al., 1994). Así, las diferencias en la longitud de la dendrita apical podrían obedecer a la presencia de un periodo crítico postnatal y que al imponerse una desnutrición en este periodo se impide una estabilización y compensación del sistema celular. Al ser conservada la misma condición hasta los 90 días de edad no sólo se consigue una alteración funcional,

sino que puede estar relacionado con deficiencias en el desarrollo, repercutiendo en aspectos bioquímicos y anatómicos deficientes cuyas consecuencias son directamente funcionales en aquellas vías de conexión que quizá también se encuentren desarrolladas pobremente (aferecias entorrinales y septales que deben llegar a la dendrita apical de la célula CA3 y establecer contacto sináptico):

El área de excrecencias, representa la comunicación sináptica entre las células granulares del giro dentado y las neuronas piramidales CA3 por medio de los axones conocidos como fibras musgosas con lo que se constituye la 2ª sinápsis del tricircuito hipocámpico. Las disminuciones observadas tanto en el perímetro como en el área de esta zona sugieren alteraciones en la calidad postsináptica de dichas conexiones axodendríticas. La relevancia fisiológica del cambio morfológico localizado en esta zona propone que la base anatómica de la función postsináptica entre el giro dentado y el campo CA3 encuentra su periodo crítico después del nacimiento y durante toda la lactancia en la rata (Bayer, 1985). Estos resultados contrastan con los encontrados en animales desnutridos crónicamente y rehabilitados postnatalmente (García-Ruiz et al., 1993, Díaz-Cintra et al., 1994) en donde no existen diferencias significativas en las edades de 30 y 90 días, no así en animales de 220 días que fueron desnutridos crónicamente en donde sí se observan reducciones en este parámetro celular (García-Ruiz et al., 1993). Por diversas investigaciones (Amaral et al., 1990) se sabe que la sinaptogénesis normal del CA3 tiene como promotor principal la llegada de axones de las células granulares del giro dentado

(fibras musgosas) y que estas a su vez inducen al desarrollo de la zona de excrecencias. Así, sería posible esperar que la disminución en el perímetro y área de excrecencias debido a la desnutrición postnatal se relacione con una reducción en el plexo de fibras musgosas. Esta reducción del plexo de fibras nerviosas ha sido reportado en animales desnutridos prenatalmente y rehabilitados postnatalmente en esta misma estructura (Galván et al., 1993).

De los parámetros más afectados considerados en este estudio, son el número de dendritas apicales y basales. Esta densidad dendrítica se observó disminuída en las dos edades consideradas (30 y 90 días). Este decremento en el número de ramificaciones apicales fue observado desde el círculo 5 al 10 afectando su organización desde el *stratum radiado* al *molecular*. En esta zona la neurona recibe información proveniente tanto de otras células CA3 ipsilaterales, como de la corteza entorrinal (vía perforante) además del septo. Esta consideración es importante ya que se ha sugerido al campo CA3 como el principal integrador de la actividad hipocámpica (Swanson y Cowan, 1977). Por tanto, las alteraciones morfológicas observadas en esta zona de la neurona implicarán posibles cambios en la integración de la información de manera importante en el animal desnutrido. En apoyo a lo anterior existen estudios previos en donde se ha reportado que la malnutrición pre y postnatal en ratas provoca decrementos significativos en el número de dendritas en la corteza cerebral (Dyson y Jones, 1976), en la corteza visual -área 17- (Díaz-Cintra et al., 1990), en el giro dentado (Cintra et al., 1990), el locus coeruleus (Díaz-Cintra

et al., 1984) y en el núcleo raphe dorsal (Díaz-Cintra et al., 1981). En relación a los incrementos observados en las dendritas apicales en animales desnutridos de ambas edades (círculo 2), se observa que el patrón de maduración dendrítica se encuentra alterado pues la curva de densidad dendrítica se aprecia desplazada con respecto a los controles.

Las dendritas basales se distribuyen en todo el *stratum oriens* extendiéndose hasta los círculos 6 y 7 en animales de 30 y 90 días de edad respectivamente. El efecto de la desnutrición postnatal es diferente a la edad de 30 días que a los 90, ya que la reducción en el número de dendritas basales en la edad de 30 días se observó desde el círculo 3 al 5, es decir solo parte del *stratum oriens* y propiamente el área inervada por las eferencias dirigidas hacia el fórnix precomisural (*stratum alveus*). En animales de 90 días de edad la densidad dendrítica distribuida en el *stratum oriens*, fue afectada en los círculos 1, 2 y 3 que constituye la información proveniente de fibras comisurales y septales.

Uno de los sustratos anatómicos más importantes para la integración de la función neural es la espina dendrítica además de constituir una característica celular estudiada es un índice de superficie sináptica neuronal, por esta razón se estudia en el modelo de privación nutricional (Díaz-Cintra et al., 1981; Paula-Barbosa et al., 1989; Cintra et al., 1990; Díaz-Cintra et al., 1991; Brock y Prasad, 1992). En este estudio se evaluó este sustrato anatómico y el efecto que tiene la desnutrición hipoproteínica postnatal en porciones dendríticas importantes de integración de

información del campo CA3, en la zona donde hacen sinapsis las fibras musgosas provenientes del giro dentado en el segmento 1 (*stratum lúcidum*), y de fibras comisurales y septales en los segmentos 2 y 3 (*stratum lúcidum* y *stratum radiatum*), en las ratas de 30 y 90 días de edad

Como fue mostrado en la Tabla III, la reducción en el número de espinas dendríticas se ve influenciada por la dieta, por la edad y por la interacción de ambas variables. La edad es un factor que *per se* influye en el patrón de desarrollo descrito en estas células piramidales y que al sumarse con la falta de proteína en la dieta ejercen un efecto sinérgico en el patrón de maduración celular. Este mismo efecto ha sido descrito en otros trabajos en desnutrición temprana (West y Kemper, 1976; Salas et al., 1974; Warren y Bedi, 1981) y en desnutrición crónica (García-Ruiz et al., 1993).

Cuando se compararon la dieta y la edad se encontraron decrementos en el número de las espinas dendríticas en los tres segmentos medidos en las células piramidales del CA3 (Tabla IV). En animales de 90 días alimentados con dieta estándar se encontró un incremento atribuido a la madurez del sistema nervioso. En el segmento 1, la diferencia fue del 14% en el número de espinas dendríticas lo cual obedece a que la formación de sinapsis axodendríticas (zona de excrecencias) exclusivas de estas neuronas piramidales, se efectúa en el periodo postnatal (P0 a P14) en la rata (Bayer, 1985). Los segmentos 2 y 3 muestran diferencias del 18% y 12% respectivamente, no obstante dichas espinas se desarrollan en el periodo

prenatal (E16 y E17) (Bayer, 1985) su maduración se efectúa postnatalmente de manera normal aumentando la complejidad de conexión a los 90 días de edad. Cuando se comparan las edades en animales desnutridos postnatalmente vemos que la densidad de espinas dendríticas se mantiene constante desde los 30 días por lo que la complejidad de conexiones no aumenta en relación con la edad. En estudios con desnutrición postnatal en ratas se observó que la desnutrición retarda el proceso normal de maduración celular sin eliminar a la población celular formada antes del nacimiento (Dobbing et al., 1971; Cragg, 1972). Así podemos pensar que en nuestro paradigma de desnutrición los posibles daños provocados por la carencia de proteína en la dieta conduzcan a un alentamiento en el establecimiento de los procesos de comunicación sináptica; por lo tanto, podría resultar interesante seguir evaluando dichas estructuras celulares en edades posteriores a las consideradas en este estudio. Lo anterior está fundamentado en estudios con desnutrición crónica y rehabilitación nutricional postnatal en donde se pudo observar cierta recuperación en el número de espinas dendríticas en los segmentos 1 y 3 en animales de 220 días de edad (Díaz-Cintra et al., 1994).

Cuando comparamos el número de espinas dendríticas entre las diferentes condiciones nutricionales observamos decrementos del 50% en los tres segmentos medidos en ambas edades (Fig. 16). Con lo anterior podemos suponer que la posibilidad de conexión con sus aferencias extra e intrahipocámpales se encuentra

limitada a la mitad en relación con el animal bien nutrido quedando reducida tanto la eficacia como el funcionamiento neuronal.

Prevención pasiva

Un propósito del presente trabajo fue comprender el daño que ejercía una dieta pobre en proteínas sobre las funciones cerebrales valoradas a través de una prueba conductual donde se sabe el hipocampo participa activamente (Franková y Barnes, 1968; Altman et al., 1973; Lynch, 1976; Jarrad 1993). Así, los datos obtenidos de la prueba de prevención pasiva nos revelan algunos posibles efectos significativos en los procesos de aprendizaje y memoria vinculados con el hipocampo; atribuidos a una historia nutricional hipoproteica postnatal.

Los resultados obtenidos de la latencia de adquisición registrada durante la prueba de prevención pasiva nos sugieren que la conducta de exploración a un espacio novedoso es similar entre los pares de cada grupo, es decir la exploración es igual entre el grupo control y desnutrido de 30 días y también los es entre el par de 90 días control y desnutrido. Asimismo, se observó que otras comparaciones nos proponen que la edad puede modificar significativamente la capacidad exploratoria de los individuos en individuos adultos haciendola con una finalidad mas clara.

La latencia de escape muestra que los animales jóvenes escapan más rápidamente a un estímulo aversivo que los adultos de 90 días. Mas aún, aquellos que han sido desnutridos postnatalmente escapan significativamente mas rápido que

sus respectivos controles en la edad de 30 días. Por lo que se sugiere que la desnutrición temprana tiene efectos más drásticos en los organismos jóvenes en desarrollo que en los adultos en lo referente a escapar de un evento desagradable. Además, se ha propuesto que el umbral de respuesta a un choque puede encontrarse disminuido por la influencia de una desnutrición temprana (Stern et al., 1975).

Las sesiones de retención a las 24 y 48 horas nos proporcionan información relacionada con la memoria a largo plazo en la rata. Los individuos desnutridos de 30 días ejecutaron deficientemente la tarea de prevención pasiva ya que las ratas no lograron asociar el espacio oscuro con el evento nocivo impuesto durante la sesión de adquisición. Sin embargo, con respecto a este punto no nos es posible distinguir si el animal no logró asociar las características del espacio oscuro (de castigo) con el choque eléctrico, o bien no lo recordaron, es decir, durante el proceso de aprendizaje ¿fue dañada la adquisición o la memoria del animal desnutrido?. La sesión de retención a los 7 días nos dio información del proceso de extinción del aprendizaje y en el grupo de animales control de 30 días, si bien disminuyó la latencia, esta disminución no es significativa para poder reconocerla como extinción pero si la distingue significativamente de la mostrada por los desnutridos de la misma edad, ya que en este grupo (desnutrido de 30 días) la latencia de retención a los 7 días después de la sesión de adquisición se observó significativamente inferior. Lo anterior propone que estos animales nunca aprendieron o recordaron la tarea de evitación pasiva y que el efecto de la desnutrición postnatal durante la vida temprana es de

deterioro de la habilidad de la rata para integrar aspectos del medio ambiente así como el asociar estímulos nocivos que pueden poner en riesgo su seguridad (Levistky, 1979).

A la edad de 90 días los animales bien nutridos ejecutaron de manera exitosa la tarea evitando pasar al compartimento de castigo, lo anterior se observó en la retención a las 24 horas. Sin embargo, esta experiencia les permite aprender nuevas características del espacio de castigo que se reflejan en un decremento significativo de la retención a las 48 horas, por lo que podemos afirmar que el proceso de extinción normal de este aprendizaje es claro una vez alcanzada cierta madurez. La retención 7 días después de la adquisición, aunque tiende a disminuir no logra ser significativamente diferente a la inmediata anterior, lo que nos sugiere que el proceso completo de extinción de este aprendizaje requiere de exponer al sujeto a un número mayor de veces a esta experiencia.

La retención a las 24 horas en el grupo de animales desnutridos de 90 días mostró de nuevo el fracaso en la ejecución correcta de la tarea pues su latencia es significativamente inferior a la mostrada por su control aunque, este aprendizaje es superior al desarrollado por los animales desnutridos de 30 días durante la misma sesión. Esto nos hace pensar que el aprendizaje en los animales desnutridos postnatalmente, se estructura de manera diferente lo que propicia cierta ventaja en aquellos individuos más maduros (90 días), esto se refleja como un aprendizaje muy bajo pero significativamente superior en relación con los individuos jóvenes.

Al comparar de manera correlacionada al grupo desnutrido de 90 días encontramos que la retención no es diferente en las tres sesiones por lo que la capacidad de extinguir su respuesta, o bien, de modificar su primer aprendizaje, de por sí deficiente, es muy baja.

Con todos estos datos podemos afirmar que la rata a los 90 días de edad ha desarrollado cierta reorganización neural que le permite procesar cierta cantidad de información como aprendizaje deficiente (dados los valores de las retenciones) pero que en definitiva los sitúa en una posición de ventaja ante un animal más joven en donde la organización y desarrollo de sus conexiones no ha finalizado. Asimismo, queda la posibilidad de que para obtener un aprendizaje más satisfactorio por parte de animales desnutridos postnatalmente, se realice un mayor entrenamiento, esto es, más sesiones de adquisición en las que este presente el estímulo nociceptivo.

Estos resultados conductuales apoyan los hallazgos morfológicos en donde se encuentra un daño severo en la citoarquitectura del campo CA3 que incluye decrementos en proyecciones dendríticas, así como en la densidad de espinas dendríticas lo que implica pobre conectividad de este campo con otras áreas de la formación hipocámpica. Al parecer un animal que ha sido desnutrido postnatalmente tiene pocas posibilidades de compensar exitosamente el desarreglo funcional que le implica una alimentación limitada en proteínas, sobre todo en periodos reconocidos como altamente vulnerables (la lactancia y el destete). Durante estos periodos se puede afectar la organización neuronal en términos de desarrollo y

maduración produciendo secuelas hasta la edad adulta de 90 días y por tanto se alteran los eventos normales de procesamiento y almacenamiento de información.

CONCLUSIONES

La desnutrición hipoproteica padecida en el periodo postnatal produce un daño severo sobre el patrón de maduración de las neuronas piramidales CA3 del hipocampo tanto como lo ya reportado en la desnutrición pre y postnatal.

Las alteraciones más drásticas se producen sobre la densidad de dendritas y espinas dendríticas, es decir, en los sitios de recepción de información de la neurona que repercuten en la maduración de la neurona piramidal CA3.

Las conexiones en el campo CA3 se alteran por efecto de la desnutrición postnatal lo cual limita la comunicación intra como extrahipocámpica.

La desnutrición postnatal, causa alteraciones en los procesos de aprendizaje y memoria tanto en animales jóvenes como en los maduros, aunque en estos últimos el daño es menos severo.

Por último, la desnutrición postnatal en la edad adulta puede causar pérdida en la flexibilidad de las estrategias conductuales de respuesta ante una experiencia nociva.

Referencias

Aguilar V.A., Díaz-Cintra S., González M.A., Morales A., Kemper T. and Morgane P.J.(1994): Prenatal malnutrition on the basket (GABAergic) dentate gyrus cells in the rat. **Congreso Anual de Neurociencias**.

Ahmed M.G.E., Bedi K.S. Warren M.A. and Kamel M.M. (1987): Effect of a lengthy period of undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the synapse: granule cell neuron ratio in the rat dentate gyrus. **J.Comp. Neurol.** **263:** 146-158.

Altman J. (1966): Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. II A longitudinal investigation of kinetics, migration and transformation on cells in corporating tritiated thymidine in infant rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain region. **J. Comp. Neurol.** **128:** 431-474.

Altman, J., Sudarshan, K., Das, G., McCormick, N., and Barnes, D. (1971): The influence of nutrition on neural and behavioral development: III. Development of some motor, particularly locomotor patterns during infancy. **Dev. Psychobiol.** **4(2):** 97-114.

Altman J., Brunner R., and Bayer S. (1973): The hippocampus and behavioral maturation. **Behavioral Biol.** **8(5):** 557-595.

Altman J. (1987): Morphological and behavioral markers of environmentally induced retardation of brain development: an animal model. **Environ. Health Perspectives.** **74:** 153-168.

Altman J. and Bayer S.A. (1990): Prolonged sojourn of developing pyramidal cells in the intermediate zone of the hippocampus and their settling in the stratum pyramidale. **J. Comp.Neurol.** **301:** 343-364.

Andersen P., and Hvalby O. (1986): Long-term potentiation: Problems and possible mechanisms. In: Isaacson, R.L.; Pribram K.H. (Eds). **The Hippocampus. Vol. 3.** Plenum Press, New York. pp 169-186.

Amaral D.G. (1978): A golgi study of cell type in the hilar region of the hippocampus of the rat. **J. Comp. Neurol.** **182:** 851-914.

Amaral D.G., Ishizuka N. and Claiborne B B. (1990): Neurons, numbers and the hippocampal network. En . J. Storm Matehisen, J. Zimmer y O.P. Ottersen (Eds), **Progress in Brain Research.** Vol. 83. Elsevier Publisher B.V. pp 1-11.

- Austin K., Bronzino J.D. and Morgane P.J. (1986): Prenatal protein malnutrition affects synaptic potentiation in the gyrus of rats adulthood. **Dev. Brain Res** : 29: 267-273.
- Balázs R., Lewis P.D. and Patel A.J.(1979): Nutritional deficiencies and brain development. En Falkner F., Tanner J. (Eds). **Human growth. Vol. 3. Neurobiology and nutrition**. New York: Plenum Press. pp 415-480.
- Barnes R.H., Neely C.S., Kowong E., Labadan B.A. and Franková S. (1968): Postnatal nutritional deprivations as determinants of adult rat behavior toward food, its consumption and utilization. **J. Nutr.** 96: 467-476.
- Barnes C.A. (1988): Spatial learning and memory processes: the search for their neurobiological mechanisms in the rat. **TINS**. 11: 163-169.
- Bayer S.A. and Altman J. (1974): Hippocampal development in the rat: cytogenesis and morphogenesis examined with autoradiography and low-level x-irradiation. **J. Comp. Neurol.** 158: 55-80.
- Bayer S. (1985): Hippocampal region .En G. Paxinos (Ed.), **The rat nervous system**. Vol. 1..Cap. 8. Academic Press. pp 335-352.
- Bedi, K.S. (1991): Effects of undernutrition in early life on granule cell numbers in the rat dentate gyrus. **J. Comp. Neurol.** 311: 425-433.
- Biel W. (1939): The effects of early inanition on a developmental schedule in the albino rat. **J. Com. Psychol.** 28: 1-15.
- Braak H. (1980): The allocortex. En Heiko Braak (Ed.), **Studies of brain function 4. Architectonics of the human telencephalic cortex**. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. New York. pp 26-48.
- Braintenberg V. y Scúz A. (1983). Some anatomical comments of the hippocampus. E: **Neurobiology of the hippocampus**, W. Siefert Ed. pp. 21-38.
- Brock J.W. and Prasad C.H. (1992): Alterations in dendritic spine density in the brain associated with protein malnutrition. **Dev. Brain Res**.66: 266-269.
- Brown T.H., Chapman P.F.,Kairiss E. W., Keenan C.L. (1988): Long-term synaptic potentiation. **Science** 242: 724-728.
- Bronzino J. D., Austin K.B., Siok C.J., Cordova C. and Morgane P.J. (1983): Spectral analysis of neocortical and hippocampal EEG in the protein malnourished rat. **Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.** 55: 699-709.
- Bronzino J.D., Austin-LaFrance R.J., Morgane P.J. and Galler J.R. (1991): Effects of prenatal protein malnutrition on kindling induced alterations in dentate granule cell excitability. I. Paired pulse measures. **Exp, Neurol.** 112: 216-223.

Buckmaster P., Stowbridge G. and Schwartzkroin P. (1993): A comparison of rat hippocampal mossy cells and CAc pyramidal cells. *J. Neurophysiol.* **70**: 1281-1299.

Buhl E.H. and Dann J.F. (1991): Cytoarchitecture, neuronal composition, and entorhinal afferents of the flying fox hippocampus. *Hippocampus.* **1**(2): 131-152.

Cajal S. Ramón (1911): *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Two vols. Maloine Paris. pp 733-799.

Cassel M.D. (1980). The numbers of cells in the stratum pyramidal of the rat and human hippocampal formation. En: Amaral D. et al., 1990.

Castro C.A. and Rudy J.W. (1987): Early life malnutrition selectively retards the development of distal-but not proximal-cue navigation. *Dev. Psychobiol.* **20**: 521-537.

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

Cerbone A., Patacchioli F.R. and Sadile A. (1993): A neurogenetic and morphogenetic approach to hippocampal functions based on individual differences and neurobehavioral covariations. *Behav. Brain Res.* **55**: 1-6.

Chase H.P., Dabiere C.S., Welch N. and O'Brien D. (1971): Intrauterine undernutrition and brain development. *Pediatrics.* **47**: 491-500.

Chen J.C., Tonkiss J., Galler J. R., and Volicer L. (1992): Prenatal malnutrition enhances serotonin release from the hippocampus. *J. Nutr.* **122**: 2138-2143.

Cintra L., Díaz-Cintra S., Galván A. and Morgane P.J. (1988): Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Bol. de Estud. Méd. y Biol. Mex.* **36**: 3-17.

Cintra L., Díaz-Cintra S., Galván A., Kemper T. and Morgane P.J. (1990): Effects of protein undernutrition on the dentate gyrus in rats of three age groups. *Brain Res.* **532**: 271-277.

Cintra L., Durán P., L. Granados and Galván A. 1993: REM-sleep deprivation in malnourished rats at 30 days of age. *Abstract Society for Neuroscience, 23rd Annual Meeting, Washington D.C.* Vol. 19 (2) pp 1732.

Corkin S. (1984): Lasting consequences of bilateral medial temporal lobectomy: Clinical course and experimental findings. En: *H.M. Semin. Neurol.* **4**: 249-259.

Cragg B.G. (1972): The development of cortical synapsis during starvation in the rat. *Brain.* **95**: 143-150.

DeBassio W.A. and Kemper T. T. (1985): The effects of protein deprivation on neuronal migration in rats. *Dev. Brain. Res.* **20**: 191-196

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

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

Díaz-Cintra S., Cintra L., Ortega A., Kemper T. and Morgane P.J. (1990): Effects of protein deprivation on pyramidal cells of the visual cortex in rats of three age groups. **J. Comp. Neurol.** **292**: 117-126.

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

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

Dobbing J. (1964): The influence of early nutrition on the development and myelination of the brain. **Proc. Roy. Soc. (London)**, ser. B. **159**: 53.

Dobbing J. (1968): Vulnerable periods in developing brain. En: Davison A.N., Dobbing J. (Eds). **Applied neurochemistry**. Oxford: Blackwell. pp 287-316.

Dobbing J. and Sands J. (1971): Vulnerability of development brain. IX. The effect of nutritional growth retardation on the timing of the brain growth-spurt. **Biol. Neonate.** **19**: 363-378.

Dobbing J. (1972): Vulnerable periods of brain development, En CIBA Foundation Sym.(Eds.) **Lipids, malnutrition and the developing brain.**, Elsevier, Amsterdam, pp 9-29.

Dobbing J. (1984): Infant nutrition and later achievement. **Nutr.Rev.** **42**: 1-7.

Douglas R.M., and Jones E.G. (1975): Long term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the rat hippocampus. **Brain Res.** **86**: 205-215.

Dyson, S.E. and Jones, E.G. (1976): Undernutrition and the developing nervous system. **Prog. Neurobiol.**, **7**: 171-196.

Escobar, B. C. (1987): **Efectos de la desnutrición y de la estimulación sensorial temprana sobre el desarrollo y la conducta de la rata.** Tesis de Maestría, IIBM. UNAM.

Escobar C. and Salas, M. (1987): Ameliorating effects of early sensory stimulation on the behavior of adult rats underfed during the lactating period. **Bol. Estud Med. Biol.Mex.** **35 (3-4)**: 195-202.

- Franková S. and Barnes R.M. (1968). Effect of malnutrition in early life on avoidance and behavior of adult rats. *J. Nutr.* **96**: 485-493.
- Franková S. (1972). Effects of early dietary and sensoric reduction on behavior of adult rats. *Activ. Nerv. Sup.* **14**: 1-7.
- Franková S. (1973): Influence of the familiarity what the environment and early malnutrition on the avoidance learning and behavior in rats. *Act. Nerv Sup.* **15**: 207-216.
- Fuenmayor L.D. and García S. (1984): The effect of fasting on 5-hydroxytryptamine metabolism in brain regions of the albino rat. *Br. J. Pharmacol.* **83**: 357-362.
- Galler J.R. and Mane M: (1980): Gender differences in visual discrimination by in response to malnutrition of varying duration. *Dev. Psychobiol.* **13**: 409-416.
- Galler J.R. (1984): The behavioral consequences of malnutrition in early life, in nutrition and behavior. J.R. Galler, (Ed.), Plenum Press, New York, pp 63-118.
- Galván A, Granados L., Díaz-Cintra S., Cintra L., Aguilar A. Kemper T. and Morgane P.J: (1993) Prenatal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on mossy fibers area of dentate gyrus of the rat. *Abstrac Society for Neuroscience, 23rd Annual Meeting, Washintong, D.C. Vol. 19 (2) pp. 1732.*
- García-Ruiz M. (1994): *Cambios en la citoarquitectura del hipocampo y en la ejecución de una tarea de aprendizaje por efecto de la desnutrición hipoproteínica.* Tesis de Doctorado. UNAM.
- García-Ruiz, M., Díaz-Cintra, S., Cintra, L. and Corkidi, G. (1993): Effect of protein malnutrition on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of three ages. *Brain Res.* **625**: 203-212.
- García-Ruiz M., Parra L., Díaz-Cintra S. (1994): Los efectos de la desnutrición sobre los procesos de aprendizaje y memoria en modelos animales. *Rev. Biomed.* **5**: 88-108.
- Goodlet C., Valentino L., Morgane P. and Resnik, O. (1986): Spatial cue utilization in chronically malnourished rats: task-specific learning deficits. *Dev. Psychobiol.* **19 (1)**: 1-15.
- Hall R., Leahy J. and Robertson W. (1979): The effects of protein malnutrition on the behavior of rats during the suckling period. *Dev. Psychobiol.* **12**: 455-466.
- Herrick C.J. (1926): Brains of rats and men. En: Isaacson R (Ed), *The limbic system.* Plenum Press. pp 327.1982.
- Husueh A.M., Simonson M., Chow B.F. Hanson A.M (1974): The importance of period of dietary restriction of the behavior and growth in the rat. *J.Nutr.* **104**: 37-46.

Hobson J.A. and Schmajuk N.A. (1988): Brain state and plasticity: An integration of the reciprocal interaction model of sleep cycle oscillation with attentional models of hippocampal function. *Arch. Ital. Biol.* **126**: 209-224.

Isaacson R.L. (1982): **The limbic system**. Segunda edición. Plenum Press, pp 327.

Jarrad L. (1993): On the role of the hippocampus in learning and memory in the rat. *Behav. Neural Biol.* **60**: 9-26

Jordan T.C., Howells K.F., McNaughton N and Heatkie P. (1982): Effects of early undernutrition on hippocampal development and function. *Res. Exp. Med.* **180**: 201-207.

Kats H. B. and Davis C.A. (1983): The separate and combined effects of early undernutrition and environmental complexity at different ages on cerebral measures in rats. *Dev. Psychobiol.* **16**: 47-58.

Grigman M.R. and Hogan E.L. (1976): Undernutrition in the developing rat: effect upon myelination. *Brain Res.* **107**: 239-255.

Lacaille J.C., Kunkel D.D. and Schwartzkroin P.A. (1989): Electrophysiological and morphological characterization of hippocampal interneurons. En: Victoria Chan-Palay y Christer Köhler (Eds.), **The hippocampus. New vistas. Neurology and neurobiology**. Vol. 52. . Alan R. Liss, Inc., New York. pp 287-307.

Laughlin N.K., Sranley F, Bell J. (1984): Early undernutrition and later hippocampal damage: effect of spontaneous behaviors and reversal learning. *Physiol. Psychol.* **11**: 268-277.

Leathwood P.D. (1976): Malnutrition and brain development. En: Reynolds D.C. (Ed), **Tropical pediatric problems in southeast Asia**. (Proc. 15th Seamed-Tropmed Seminar). Bangkok: Seamed-Tropmed Project. 7-20.

Levitsky D.A. and Barnes R.H. (1970). Effect of early malnutrition on the reaction of adult rats to aversive stimuli. *Nature* **225**: 469-469

Levitsky D.A. (1979): Malnutrition and the hunger to learn. En : Levitsky D.A. (Ed.), **Malnutrition, environment and behavior**. Ithaca Coronell University Press. pp 161-179.

Lewis P., Patel A. and Balázs R. (1979): Effect of undernutrition on cell generation in the adult rat brain. *Brain Res.* **168**: 186-189.

López-Antunez (1986): **Anatomía funcional del sistema nervioso**. Trillas Ed. México.

Lorente de Nó, R (1934): Studies on the structure of the cerebral cortex. II. Continuation of the study of the ammonic system. *J. Psychol. Neur.* **46**: 113-177.

Lynch G., and Cotman C. (1975): The hippocampus as a model for studying anatomical plasticity in the adult brain. En: **Anatomical plasticity in the adult brain**. Plenum Press, N.Y. pp. 123-153.

Lynch A. (1976): Passive avoidance behavior and response thresholds in adult male rats after early postnatal undernutrition. **Physiol. Behav.** 16: 27-32.

Macrides F., Eichenbaum H. and Forbes W. (1982): Temporal relationship between sniffing and limbic theta rhythm during odor discrimination reversal learning. **J. Neurosci.** 2: 1705-1717.

Massaro T.F., Levitsky D. and Barnes R.H. (1977): Early protein malnutrition in the rat: Behavioral changes during rehabilitation. **Dev. Psychobiol.** 10: 105-111.

McNaughton B.L., Barenes C.A. and O'Keefe J. (1983): The contributions of position, direction and velocity to single unit activity in the hippocampus of freely moving rats. **Exp. Brain Res.** 52: 41-49.

Morgane P.J., Kemper T., Stern W., Forbes W., Hall R., Bronzino J., Kissane J., Hawrylewicz E. and Resnic O. (1978): The effects of protein malnutrition on the developing nervous system in the rat. **Neurosci. Biobehav. Rev.** 2: 137-230.

Morgane P.J., Austin K.B., Siok C.S., La France R.J. and Bronzino J.D. (1985): Power spectral analysis of hippocampal and cortical EEG activity following severe prenatal protein malnutrition in the rat. **Dev. Brain Res.** 22: 211-218.

Morgane P.J., Austin-La France R.J., Kemper T. and Galler J.R. (1992): Malnutrition and the developing central nervous system. En: Isaacson Robert y Jensen K. (Eds.), **The vulnerable brain and environmental risks, Vol 1: Malnutrition and hazard assessment**, Plenum Press. New York. pp 3-44.

Morgane P.J., Austin-LaFrance, Bronzino J., Tonkiss J., Diaz-Cintra S., Cintra L., Kemper T. and Galler J.G. (1993): Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neurosci. and Biobehav. Rev.** 17: 91-128.

Muller, R.V. and Kubie J.L. (1987): The effects of changes in the environment on the spatial firing of hippocampal complex-spike cells. **J. Neurosci.** 7: 1951-1968.

Nauta W. and Feirtag M. (1987): **Fundamentos de Neuroanatomía**. Ed. Labor España.

O'Keefe J. (1979): A review of the hippocampal place cells. **Prog. Neurobiol.** 13: 419-439.

O'Keefe J. (1983): Spatial memory within and without the hippocampal system. En: Siefert W. (Ed.), **Neurobiology of the hippocampus**. Academic Press, pp 375-403.

Olton D. S. (1983): Memory functions and the hippocampus. En W. Seifert (Ed), **Neurobiology of the hippocampus**. London. Academic Press. pp 335-373.

Olton D.S. (1989): Memmonic functions of the hippocampus: single unit analysis in rats. En Victoria Chan-Palay y Christer Köhlerthe (Eds.), **Hippocampus. New vistas. Neurology and neurobiology. Vol. 52.** Alan R. Liss, Inc., New York. pp 411-424.

Prado A.R.y Quirarte G. (1993): La conducta y la mente. **Información Científica y Tecnológica 15:** 21-26.

Quirarte G.L. (1995): Estudio sobre los efectos de niveles altos y bajos de reforzamiento sobre la amnesia experimental. **Tesis de Doctorado, Facultad de Medicina UNAM.** pp 95-102.

Rosene D.and Van Hoesen G. (1991): The hippocampal formation of the primate brain. En: Peters A. and Jones E.G. (Eds.), **Cerebral cortex vol. 9,** pp 345-456..

Rudy J.W. and Castro C.A. (1990): Undernutrition during the brain growth period of the rat significantly delays development of processes mediating Pavlovian trace conditioning. **Behav. Neural. Biol. 53:** 307-320.

Salas M. (1972): Effects of early malnutrition on the development of swimming ability in the rat. **Physiol. Behav. 8:** 119-122.

Salas M., Díaz S. and Nieto A. (1974): Effects of neonatal food deprivation on cortical and dendritic development of the rat. **Brain Res. 73:** 139-144.

Salas M, and Cintra L. (1975): Development of the electrocorticogram during starvation in the rat. **Physiol. Behav. 14:** 589-593.

Salas M., Torrero C. and Pulido S. (1984): Undernutrition induced by early pup separation delays development of the thalamic reticular nucleus in rats. **Exp. Neurol. 93:** 447-455.

Schulte F.J., Schrepf G. and Hinze G. (1972): Maternal toxemia, fetal malnutrition and motor behavior of the newborn. **Pediatrics. 48:** 871-882.

Sholl D.A. (1956): **The organization of the neurons in the cerebral cortex.** Hafner, New York. N.Y.

Sloviter R.(1989): Chemically defined hippocampal interneurons and their possible relationship to seizure mechanisms. En: Victoria Chan-Palay y Christer Köhler (Eds.), **The hippocampus, New Vistas. Neurology and neurobiology. Vol 52.** Alan R. Liss, Inc., New York. pp 443-462.

Smart J. L. and Dobbing J.(1971): Vulnerability of developing brain.. Relative effects of fetal and early postnatal undernutrition on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. **Brain Res. 33:** 303-314.

Smart J.L. (1979): Undernutrition and the development of the brain. En: Brown K; Cooper S.J. (Eds.), **Chemical influences on behavior.** London: Academic Press. pp 1-33.

Smart J.L. and Dobbing J. (1972): Vulnerability of developing brain. IV. Passive avoidance behavior in young rats following maternal undernutrition. *Dev. Psychobiol.* **5**: 129-136.

Smart J.L., Dobbing J, Adlard B.P.F, Lynch A, Sanda J. (1973): Vulnerability of developing brain: Relative effects of growth restriction during the fetal and suckling period on behavior and brain composition of adult rats. *J. Nutr.* **103**: 1327-1338.

Smart J.L., Watson T.S. and Dobbing J. (1976): Nutritionally small-for data rats: Their subsequent growth, regional brain 5-hydroxyptamine turnover and behavior. *Pediatr. Res.* **10**: 807-811.

Smart J.L. (1979): Undernutrition and the development of the brain. En: Brown K; Cooper S.J. (Eds.), **Chemical influences on behavior**. London: Academic Press. pp 1-33.

Smart J.L. (1987): The need for and the role varice of animal studies of early undernutrition. En: Doobing J. (Ed) **Early Nutr. and later achiev.** Academic Press. London. pp 50-85.

Smart J.L., Massey R.F., Nash S.C. and Tonkiss J. (1987): Effects of early life undernutrition body and organ growth. *Brit. J. Nutr.* **58**: 245-255.

Smart J. (1991): Critical periods in brain development. En:CIBA Foundation Symposium (Eds.), **The childhood environment and adult disease**. Wiley Chichester. pp 109-128.

Squire, L.R. and Zola-Morgan. (1983): The neurology of memory: The case for correspondence between the findings for humans nonhuman primate. En: J.A. Deutsch (Ed.) **The physiological basis memory**. New York. Academic Press, pp. 199-268.

Stern W., Morgane P.J., Miller M. and Resnick O. (1975): Protein malnutrition in rats: Response of brain amines and behavior to foot shock stress. *Exp. Neurol.* **47**: 56-67.

Swanson, L. W. and Cowan, W.M. (1977): Autoradiographic studies of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat, *J. Comp. Neurol.* **172**: 49-84.

Tanabe G. (1972): Remediating maze deficiencies by the use of environmental enrichment. *Dev. Psychobiol.* **7**: 224.

Walle J. H. (1987): **Fundamentos de Neuroanatomía**. España. Ed. Labor.

Wapnir R.A., Lifshitz F. (1977): Fasting-induced hypoglycemia in methodological malnourished rats. *J. Nutr.* **107**: 383-390.

Warren M.A. and Bedi K.S. (1981): A quantitative assessment at development of synapses and neurons in the visual cortex of control and undernourished rats. *J. Comp. Neurol.* **227**: 104-108.

West C.D. and Kemper T. (1976): The effect of low protein diet on the anatomical development of the rat brain. **Brain Res.** 107: 221-237.

Wiener, S.G., Fitzpatrick K.M., Levine, R., Smotherman W.P. and Levin S. (1977): Alterations in the maternal behavior of rats rearing malnourished offspring. **Dev. Psychobiol.** 10: 243-254.

Wiggins R.C., Miller S.L., Benjamins J.A. (1976): Myelin synthesis during postnatal nutritional deprivation. **Brain Res.** 107: 257-272.

Winick M. and Noble A. (1966): Cellular response in rats during maturation at various ages. **J. Nutr.** 89: 300-306.

Winick M. (1969): Food, time and cellular growth of the brain. **N.Y. State J. Med** 69: 302-304.

Winick M. (1970): Cellular growth on intrauterine malnutrition. **Pediatr. Clin. North Am.** 17: 69-78.

Zola-Morgan S. Squire L.R. and Amaral D. (1986): Human amnesia and the medial temporal region: Enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to the CA1 field of the hippocampus. **J.Neurosci.** 6: 2950-2967.