



33
2g:
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE PSICOLOGIA

APRENDIZAJE OLFATORIO EN CRIAS
DE RATA DESNUTRIDAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE :

LICENCIADO EN PSICOLOGIA

P R E S E N T A :

IVETTE CALDELAS SANCHEZ

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. CAROLINA ESCOBAR BRIONES

MEXICO, D. F.

1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

DEDICATORIA

**A mis padres por todos estos años de esfuerzos
y sacrificios para darme lo mejor.**

**A Igor, Ivonne, Paulette, Yosette, Janette y
Ashley por su cariño y amistad incondicional.**

A Gerardo por todo su cariño, comprensión y ayuda.

**Mi más profundo agradecimiento a la Dra. Carolina Escobar Briones,
por todas sus enseñanzas, paciencia, confianza y el haberme
proporcionado la gran oportunidad de
colaborar con ella.**

AGRADECIMIENTOS

A Susana Pulido por su invaluable ayuda en la realización de esta investigación y ser una gran amiga.

Al Dr. León Cintra M. y a la Dra. Sofía Díaz-Cintra por permitirme formar parte de su magnifico grupo de trabajo y brindarme las facilidades para redactar y finalizar este proyecto.

Al Dr. Manuel Salas por permitirme realizar el trabajo experimental en su laboratorio.

A el Mtro. en I. Miguel Angel Guevara por la asesoría en las estrategias estadísticas utilizadas en este trabajo de tesis.

A Pilar Durán y Agustín Galván por sus valiosos comentarios y ayuda que me han proporcionado.

A la fam. Alcantara Sánchez, fam. Castillo, Sra. Rosa Ma. Rodriguez, Sra. Mercedes Villaseñor del Pozo y Esther Oliver, por el cariño y apoyo que me proporcionaron en los momentos difíciles.

**Agradezco a los miembros del jurado sus valiosos comentarios y críticas en
la revisión de esta tesis:**

**Mtr. Alfonso Salgado Benitez
Dr. José Ma. Calvo y Ojalora
Dra. Carolina Escobar Briones
Lic. María Eugenia Dorantes Guevara
Dr. Sergio Meneses Ortega**

RESUMEN

Se evaluó la respuesta de reconocimiento olfatorio durante la lactancia en crías desnutridas de rata. Para ello, se recurrió al modelo de aprendizaje olfatorio temprano que se presenta cuando las crías asocian el olor de la hembra lactante y del nido con la experiencia del cuidado materno. Esta asociación genera en las crías una preferencia y orientación hacia la fuente que contenga ese olor. Para evaluar la adquisición de esta preferencia se recurrió a una prueba de dos opciones y en ella se midió el tiempo dedicado a olfatear, la elección, la latencia y la preferencia por una de dos fuentes de olor en crías de 1 a 12 días de edad.

Con este paradigma se realizaron tres experimentos en los cuales se probaron varios grupos experimentales: desnutridas postnatalmente (DES) y sus controles (CON); desnutridas pre y postnatalmente (D - D) y desnutridas prenatalmente y rehabilitadas (D - R); desnutridas postnatalmente y sus controles expuestas a una modificación del olor materno (D/AJO y C/AJO).

La desnutrición prenatal se provocó restringiéndoles 50% el alimento a las hembras gestantes; y la desnutrición postnatal por el método de separación parcial de la camada, que consistió en retirar del nido a la mitad de las crías durante 12 horas y colocarlas en una incubadora para reducir su oportunidad de succión.

Los datos mostraron que tanto las crías desnutridas como sus controles tenían la capacidad de asociar el olor materno y exhibir una preferencia a éste cuando se les evaluó en la prueba de dos opciones. Las crías desnutridas mostraron mayor número de respuestas de preferencia y elección al olor materno, así como menor latencia para desplazarse a él. Esta respuesta pudo ser consecuencia de la restricción de alimento a la que estaban sometidas, lo que incrementó su motivación por desplazarse al olor materno.

Al someter a las crías a un olor ajeno (ajo) asociado a la experiencia materna, las crías mostraron parcialmente preferencia por este estímulo oloroso, que fue altamente significativa cuando se comparó con un estímulo neutro, pero perdió atracción cuando se comparó contra el olor natural materno.

Concluimos que la desnutrición pre y/o postnatal no alteran en las crías la capacidad para formar asociaciones olfatorias tempranas ni para expresar esta preferencia a pesar de que estudios previos han descrito efectos importantes en la ontogenia del bulbo olfatorio asociados a la desnutrición. También se plantea la necesidad de ampliar este conocimiento con otros paradigmas de aprendizaje olfatorio en periodos de la lactancia o la edad adulta, ya que la información olfatoria es relevante para funciones básicas de supervivencia, interacción social y reproducción en la rata.

INDICE

INTRODUCCION	1
Definición de Desnutrición	2
Periodos críticos de Desarrollo Cerebral	3
Efectos de la Desnutrición sobre el Sistema Nervioso	6
Efectos de la Desnutrición sobre la Conducta	7
-Efectos a corto plazo	7
-Efectos a largo plazo	7
Efectos de la Desnutrición sobre el Bulbo Olfatorio y la Respuesta Olfatoria	9
Respuesta de Discriminación Olfatoria	10
Planteamiento del Problema	13
-Objetivos	13
-Hipótesis	13
-Procedimiento	13
EXPERIMENTO 1	15
Material y Método	15
-Sujetos	15
-Obtención de crías	16
-Método de desnutrición postnatal	16
-Marcaje de crías	17
-Control de peso corporal	17
-Prueba de discriminación olfatoria	19
-Análisis estadístico	23
Resultados	24
-Pesos corporales	24
-Tiempo de olfacción	24
-Elección	27
-Latencia	29
-Preferencia	29
Conclusiones	32
EXPERIMENTO 2	34

Material y Método	35
-Sujetos	35
-Estrategia de desnutrición prenatal	35
-Obtención de crías	36
-Evaluación de las crías	37
-Análisis estadístico	37
Resultados	38
-Peso corporal de las hembras	38
-Peso corporal de las crías	38
-Tiempo de olfacción	40
-Elección	40
-Latencia	43
-Preferencia	43
Conclusiones	46
EXPERIMENTO 3	47
Material y Método	48
-Obtención de crías	48
-Modificación del olor materno	48
-Procedimiento de desnutrición	48
-Prueba de discriminación olfatoria	50
Resultados	51
-Ingesta de agua	51
-Pesos corporales	51
Aserrín Materno con Ajo Vs Aserrín Fresco	53
-Tiempo de olfacción	53
-Elección	53
-Latencia	53
-Preferencia	57
Aserrín Materno con Ajo Vs Aserrín Materno	59
-Tiempo de olfacción	59
-Elección	59
-Latencia	62
-Preferencia	62
Conclusiones	65

DISCUSION	67
ANEXO 1	75
REFERENCIAS	77

INTRODUCCION

La desnutrición es actualmente un problema social difundido por todo el mundo. Este afecta principalmente a la población infantil durante los primeros años de vida, que es un periodo determinante en el crecimiento y maduración cerebral. Múltiples estudios han reportado que los niños que padecen desnutrición en la temprana infancia muestran, posteriormente, capacidad deficiente de aprendizaje y bajo cociente intelectual, que pudieran ser la manifestación conductual de alteraciones en la maduración del sistema nervioso (Greene, 1977). Los estudios realizados en poblaciones infantiles en riesgo resultan difíciles de interpretar debido a la cantidad y variedad de factores sociales que interfieren en el desarrollo mental del niño, tales como valores culturales, estimulación temprana, características familiares, escolaridad, etc. (Cravioto y DeLicardie, 1975). Por tal motivo, se ha recurrido a modelos experimentales, con los cuales se ha intentado deslindar la influencia del factor nutricional de otros factores sociales sobre el desarrollo cerebral y la conducta.

Se ha constatado que la desnutrición es uno de los factores ambientales críticos que afectan la maduración y el desarrollo funcional del SNC, ya que ésta origina un decremento en el abastecimiento de nutrientes y energías necesarias para el desarrollo de estructuras celulares y sistemas metabólicos esenciales. Cuando ésta afecta a organismos en desarrollo, produce alteraciones permanentes en la morfología, fisiología y neuroquímica cerebral, que se manifestarán finalmente en las funciones superiores del SN, particularmente en la esfera del desarrollo cognoscitivo.

Definición de Desnutrición

La desnutrición es provocada principalmente por deficiencias de energía y proteínas, por lo cual se le ha denominado "Desnutrición Energético - Protéinica". Sin embargo en muchos casos, este tipo de desnutrición va acompañada de deficiencias de otros nutrientes (vitaminas o minerales) por lo que se ha propuesto que el término adecuado para designar este fenómeno es "Síndrome Pluricarencial" (Monckeberg, 1968).

Por otra parte, se sabe que las personas desnutridas además de carecer de los elementos anteriores también viven en sitios marginados y tienen pocas oportunidades de educación. Cravioto y DeLicardie (1975) determinaron que en familias en donde existe alto riesgo de desnutrición, se provee al niño también de una deficiente estimulación temprana, de tal manera que sugirieron para este fenómeno el término "Síndrome de Privación Social".

La desnutrición se puede clasificar por su duración en aguda y crónica; y para clasificar su gravedad hay diversas propuestas. De ellas, la clasificación de Gómez y col. (1954), con base en el déficit de peso de acuerdo con la edad, es una de las más utilizadas (Tabla 1).

La desnutrición de tercer grado, puede presentar gran variedad de modalidades clínicas, cuyos extremos son:

- **MARASMO.** El cual generalmente se presenta cuando la dieta es insuficiente en cantidad, pero sin alteraciones en las proporciones de los distintos nutrientes. Se presenta en lactantes que no reciben la cantidad suficiente de leche materna o bien reciben leche de vaca muy diluida, así como suplementos alimenticios en mínima cantidad o ninguno. Los niños que padecen marasmo, muestran: severa detención en el crecimiento, disminución de la masa muscular, ausencia de grasa subcutánea, decoloraciones del pelo, frecuentes diarreas, baja actividad física y estado mental irritable, dermatosis y ocasionalmente, presentan crecimiento del hígado.
- **KWASHIORKOR.** Este se presenta principalmente cuando la dieta es deficiente en proteínas pero alta en energía o cuando la dieta consiste básicamente de harinas, cereales, raíces y frutas. Se presenta primordialmente en preescolares. A diferencia del

marasmo, estos niños presentan: menor detención del crecimiento, presencia de grasa subcutánea, generalmente presentan edemas, dermatosis y crecimiento del hígado, baja actividad física y estado mental apático.

Tabla 1. Clasificación del grado de desnutrición de acuerdo al déficit de peso corporal.

GRADO DE DESNUTRICION	% DE PESO PROMEDIO TEORICO PARA CADA EDAD
1° o Leve	70 - 90
2° o Moderado	61 - 75
3° o Grave	menor a 60

Periodos Críticos del Desarrollo Cerebral

Dobbing (1968), basado en observaciones de los procesos del desarrollo y organización cerebral que ocurren durante la gestación y etapas tempranas postnatales propuso el concepto de **Periodos Críticos** (Morgane y col., 1993).

Durante los periodos críticos, tiene lugar el "crecimiento rápido" cerebral, el cual consiste de una secuencia intrincada de varios procesos anatómicos y neuroquímicos en cada una de las regiones cerebrales. Cada proceso como la neurogénesis, gliogénesis, migración celular, diferenciación celular, etc., comprenden tiempos específicos durante los cuales son susceptibles a ser alterados con mayor facilidad por agentes exógenos como la desnutrición

(Fig. 1), causando déficits irreversibles en la maduración y organización última del cerebro (Dobbing, 1972, 1990; Morgane, 1993).

La rata, al igual que el ser humano es una especie altricial, en donde el desarrollo de las estructuras que constituyen el sistema nervioso central (SNC) empieza desde la gestación y concluye en la etapa temprana neonatal. En ambas especies la ontogenia de las estructuras que comprenden el SN es heterocrónica, ésto es, cada estructura comprende una etapa distinta de la ontogenia; de tal manera que algunas se forman primordialmente durante la gestación y otras durante la lactancia. Células que forman a las estructuras subcorticales se generan durante la gestación, también se generan las células grandes de proyección que conforman al SNC y algunas interneuronas, mientras que en la fase postnatal se generan interneuronas del tipo de las células granulosas del cerebelo, del hipocampo y del bulbo olfatorio; también se generan células gliales y se lleva a cabo la mielinización (Dobbing, 1972; Winick y Rosso, 1975). Como resultado de esta distribución temporal, algunas estructuras son más vulnerables a eventos que inciden durante la gestación, mientras que otras son más vulnerables durante la lactancia (Dobbing, 1990).

Así, la ontogenia cerebral en la rata y el ser humano siguen procesos similares que resultan equivalentes, pero que en la rata comprenden periodos más cortos. Por ello, la rata resulta un modelo experimental muy utilizado para el estudio de los efectos de la desnutrición sobre el desarrollo del SN y su manifestación conductual.

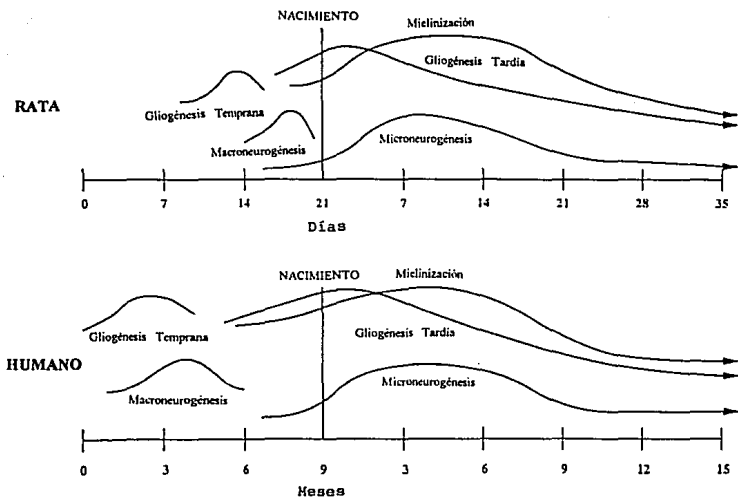


Fig. 1. Esquema en el que se representan las etapas de mayor desarrollo en el cerebro de ratas y humanos. Aquí se muestran los periodos de máxima vulnerabilidad relacionada a estados de maduración, que pueden ser afectados pre o postnatalmente (Morgane y col., 1983).

Efectos de la Desnutrición sobre el Sistema Nervioso

Se ha observado que las estructuras cerebrales que cursan por un periodo de intenso crecimiento postnatal son más vulnerables a sufrir alteraciones por la desnutrición (West y Kemper, 1976). Durante la gestación el organismo de la hembra gestante amortigua la falta de nutrientes, de manera que la gravedad de la desnutrición no se manifiesta de la misma intensidad en las crías, aunque si llega a afectar algunas estructuras de formación temprana. Sin embargo, durante la lactancia la cría queda expuesta directamente a la influencia de eventos ambientales y las estructuras en desarrollo altamente vulnerables, como son la corteza cerebral (Barnes y Altman, 1973; Sharma y col., 1987) y la corteza cerebelosa (Griffin y col., 1977), el hipocampo (Ahmed y col., 1987; Díaz-Cintra y col., 1991) y el bulbo olfatorio (Debassio y Kemper, 1985) sufren alteraciones irreversibles. En todas ellas la proliferación y migración celular se lentifican por la desnutrición, resultando entonces una reducción en la cantidad de células nerviosas, en especial de interneuronas.

En estas zonas vulnerables así como en otras estructuras cerebrales se ha descrito que en algunos grupos celulares se lentifica el proceso de formación de ramas dendríticas, de manera que a largo plazo esos grupos neuronales tienen árboles dendríticos menos ramificados (Cordero y col., 1986; Díaz-Cintra y col., 1990; Díaz-Cintra y col., 1991; Escobar, y Salas, 1993; Hillman y Chen, 1981; Schönheit y Haensel, 1989).

Por otra parte, se ha encontrado que en algunos grupos neuronales se incrementa la densidad celular, como es en la corteza entorrinal y el estriado (Brock y Prasad 1992), por lo que el campo de recepción y su influencia en la transmisión de los potenciales postsinápticos al cuerpo celular de algunas estructuras cerebrales se ven modificados por la desnutrición.

Funcionalmente, la inmadurez del sistema nervioso del desnutrido se expresa en un electroencefalograma con mayor proporción de ondas lentas (Morgane y col. , 1985), especialmente en el lóbulo temporal (Salas y Cintra, 1975). En los patrones de sueño se ha descrito una distribución circádica distinta de los patrones de la fase de sueño paradójico o

sueño MOR (Cintra y col., 1988) que se caracteriza por un retraso de fase en el nictémero. Así mismo, en registros de potenciales provocados por estímulos visuales, auditivos y somatosensoriales se ha observado mayor latencia y menor amplitud de los componentes tardíos en estas respuestas eléctricas (Morgane y col., 1978; Mourek y Himwick, 1967; Salas y Cintra, 1975).

Asociado al retraso en la maduración del sistema nervioso se ha observado un retraso de 1 a 2 días en la maduración de las vías sensoriales, como por ejemplo en la apertura de los párpados y del conducto auditivo (Biel, 1939; Hall y col., 1979); y en el brote de los incisivos (Biel, 1939).

Efectos de la Desnutrición Sobre la Conducta

Efectos a corto plazo.-

Se ha descrito en crías desnutridas la persistencia del reflejo de prensión (Altman y col., 1971); deficiencias notorias en orientación a la luz (Biel, 1939), orientación al nido y dificultad para regresar al mismo (Altman y col. 1971), deficiente interacción con la hembra lactante y con las otras crías de la camada (Franková, 1973), deficiente exploración del medio ambiente (Franková, 1973), retraso en la aparición de patrones motores de husmeo horizontal y vertical (Hall y col. 1979; Massaro y col. 1977), de escarbar (Hall y col. 1979), de trepar (Massaro y col. 1977), de aseo (Hall y col. 1979; Salas y col. 1991) y de nado (Salas y Cintra, 1973), así como modificaciones de las respuestas sociales (Franková, 1973).

Efectos a largo plazo.-

Las ratas desnutridas postnatalmente, a largo plazo, establecen interacciones sociales inadecuadas con sus congéneres, caracterizándose por ser más reactivas (Levitsky, 1975; Tonkiss y Smart, 1983), más agresivas (Franková, 1973) e incapaces de modular su respuesta emocional (Wiener y col., 1983; Escobar, 1987). A su vez en pruebas experimentales de discriminación visual y aprendizaje muestran un rendimiento inferior al de sus controles (Bedi,

1992; Goodlett y col., 1986), muchas veces atribuida a la intensa reacción emocional que las caracteriza (Levitsky, 1975). También se ha observado que tanto la relación madre - cría, como la conducta materna en general son afectadas de forma directa por la desnutrición (Franková y col., 1973) y las madres desnutridas permanecen mayor tiempo en el nido (Massaro y col., 1977; Hall y col., 1979; Salas y col.; 1984) y amamantando a sus crías (Salas y col., 1984; Hall y col. 1979). De la misma manera, presentan persistentes y compulsivas conductas de aseo y rodeo de sus crías, y se han reportado también deficiencias en cuanto a la forma y dimensión de los nidos (Salas y col., 1984).

Las observaciones realizadas en ratas desnutridas coinciden en señalar que la desnutrición neonatal provoca un retraso en la aparición de ciertas conductas, que hay alteraciones en el comportamiento social, baja conducta exploratoria y presentan respuestas emocionales exageradas. Sin embargo en evaluaciones de su capacidad de aprendizaje, en las que se ha utilizado paradigmas de condicionamiento instrumental y laberintos los resultados son contradictorios, principalmente cuando se utilizan reforzadores apetitivos (primarios). Este fenómeno se ha atribuido a que las ratas desnutridas por la privación prolongada de alimento a que se han expuesto, muestran una intensa motivación hacia la comida (Levistky, 1975; Halas, 1980; Garcia-Ruiz y col. 1994).

Por otra parte, el uso de reforzadores aversivos, como consecuencias para el aprendizaje han resultado también una estrategia poco exitosa y que ha llevado a inconsistencias en los resultados, ya que, como se mencionó anteriormente, las ratas desnutridas son muy emocionales y nerviosas. En estas presentan respuestas de congelamiento y respuestas emocionales exageradas que bloquean la expresión adecuada de la tarea adquirida (Salas y Cintra, 1973; Levitsky, 1975; Garcia-Ruiz y col. 1994).

Con esta dificultades metodológicas se han buscado otros paradigmas de aprendizaje, como es el caso de los laberintos que primordialmente miden las habilidades visuo espaciales (Goodlett y col., 1986; Castro y Rudy, 1987; Bedi, 1992) y en estos, nuevamente han surgido inconsistencias en cuanto a las posibles alteraciones que pudiera provocar la desnutrición.

Efectos de la Desnutrición sobre el Bulbo Olfatorio y la Respuesta Olfatoria

Como se mencionó anteriormente, el bulbo olfatorio es una de las estructuras cerebrales vulnerables a la desnutrición postnatal debido a que sus células granulosas (interneuronas) se generan y organizan durante la lactancia. Estudios previos han descrito que la migración de las células del bulbo olfatorio se lentifica por la desnutrición postnatal (Debassio y Kemper, 1985) lo cual provoca un retardo en la estructuración y organización de las interneuronas en esta zona y posiblemente una modulación deficiente de la información aferente a nivel del bulbo olfatorio.

El registro EEG de la actividad espontánea e inducida en el bulbo olfatorio, en crías desnutridas de los 4 a los 10 días de edad ha mostrado un retraso en la maduración de los patrones de actividad eléctrica espontánea y provocada (Almli y col., 1985) y esta inmadurez se puede observar todavía a los 30 días de edad. Efectos muy similares los observaron Rajanna y col. (1987) en crías de 21 días de edad, en las cuales persistían ondas de alta amplitud (ondas lentas) cuando en el patrón EEG de crías control habían desaparecido.

Con una prueba conductual, "homing" Altman y col. (1971) probaron la eficiencia de las crías de rata para detectar y dirigirse al olor del nido o de la madre. Entre los 6 y los 21 días las crías desnutridas moderadamente mostraron mayor cantidad de errores, su latencia de respuesta y el tiempo para lograr la respuesta correcta fue mayor que en las crías control. Esta prueba tiene un componente emocional y requiere de cierta habilidad motora asociadas al componente de discriminación olfatoria, en la rata desnutrida lo cual dificulta interpretar el rendimiento olfatorio en la prueba.

Con excepción del trabajo de Altman y col. (1971) poco se ha explorado sobre el desarrollo de la respuesta olfatoria en ratas desnutridas, a pesar de que los estudios anatómicos han mostrado que el bulbo olfatorio es altamente vulnerable a la desnutrición. Asimismo, se cuenta con muchos trabajos que han tratado de determinar la capacidad de aprendizaje en ratas adultas que fueron desnutridas durante el desarrollo, pero poco se sabe sobre el rendimiento en pruebas de aprendizaje en ratas desnutridas lactantes.

Respuesta de Discriminación Olfatoria

La rata es una especie macrosmática dependiente de las sensaciones olfatorias; en éstas el olfato cubre diversas funciones primarias como mantener contacto entre el organismo y su medio ambiente, detectar posibles predadores y búsqueda de alimento (Teichner y Blass, 1976) y también diversas funciones secundarias como la creación y mantenimiento de una organización social y control de algunas conductas como el juego (Beatty y Costello, 1983) y el apareamiento (Romero y col. 1990). En las crías de rata se observan las primeras respuestas de actividad eléctrica espontánea olfatoria alrededor del día 3-4 de edad (Salas y col., 1969) y se sugiere que éstas van dirigidas a la identificación de la madre lactante, de los hermanos de camada y del nido.

La asociación que se establece entre los olores de la hembra y el nido con la experiencia de los cuidados maternos es considerada como un modelo de aprendizaje olfatorio temprano, aunque en la literatura no se ha definido el tipo de aprendizaje que comprende a este fenómeno. Se propone que se trata de un condicionamiento clásico (Wilson y Leon, 1988; Leon 1992) en el que se asocia la estimulación táctil del lamido de la hembra lactante con el olor que ella emite, convirtiéndose este olor en un estímulo por sí mismo significativo para la cría. Se propone también que la presentación de un olor seguido de un reforzador primario, que puede ser el lamido de la hembra a la cría o la emisión de leche (Sullivan y col. 1988 y 1990), así como la interacción con las otras crías del nido (Galef y Kaner, 1980) llevan a la formación de una preferencia por el olor materno. Rosenblatt (1983) sugiere que los estímulos olfatorios se convierten en incentivos para las crías, debido a que las crías recién nacidas persiguen únicamente las fuentes de estimulación importantes para su supervivencia; como es el caso de los estímulos térmicos y táctiles, los cuales son proporcionados por la hembra lactante durante los cuidados maternos. El uso de la olfacción posibilita a la cría para identificar la fuente que le está proporcionando dichos estímulos y asociarla con el olor. Por lo que esos estímulos olfatorios adquieren una representación interna y la cría emitirá respuestas específicas, en términos del significado que poseen esas señales olfatorias (Haroutunian y

Campbell, 1979; Rosenblatt, 1983). En otras palabras, la experiencia olfatoria temprana de las crías dentro del nido asociada a la estimulación derivada de los cuidados maternos, tiene como resultado una preferencia aprendida al olor materno y un cambio concomitante en la respuesta conductual de las crías ante la presencia del olor materno (Rosenblatt, 1983; Sullivan y col., 1986; Sullivan y col., 1990; Sullivan y Wilson, 1991).

Otra aproximación teórica sugiere que la rata recién nacida pasa por un periodo altamente sensible en el cual establece asociaciones olfatorias permanentes similares a la experiencia de impronta que se observa con estímulos visuales con aves (Woo y Leon, 1987; Salas y col. 1969). Esta aproximación, se apoya en que la asociación se establece en un periodo crítico que comprende del día 1 al 8 postnatal y que una vez establecida no es reversible y es permanente por toda la lactancia. De tal forma que se trataría de un proceso relativamente estereotipado y con poca posibilidad de modificarse. Los estímulos olfatorios pudieran variar, como se ha podido constatar con experimentos en que se ha modificado el olor asociado a la madre. Sin embargo, el mecanismo para la formación de esta asociación no desaparece ni parece alterarse.

Michel Leon (1971, 1972, 1975, 1992) propone, que la principal fuente de olor que es atractiva para las crías proviene de las excreciones anales de la madre lactante, ya que durante este periodo se incrementa dramáticamente la cantidad y los componentes volátiles de los bolos fecales, principalmente de cecotrofos. En el cecum o intestino ciego es el lugar donde se producen los cecotrofos. En éste, el alimento que pasa se activa por los microbios de esa área, los cuales facilitan la utilización del alimento y la producción de vitaminas. Durante la lactancia las hembras incrementan el consumo de alimento (el cual se debe al aumento de los niveles de prolactina), este órgano aumenta su tamaño y la reingestión no se efectúa, por lo que los cecotrofos no se consumen y se liberan al medio externo en altas concentraciones.

Se ha descrito que otros olores que también son atractivos para las crías lactantes son aquellos que provienen del vientre de la madre (Teichner y Blass, 1977), la orina del nido y la

saliva materna (Teichner y Blass, 1976; Sullivan y col., 1986), debido a que estos se asocian a eventos del cuidado materno.

Por otra parte, se ha observado un incremento en la respuesta del bulbo olfatorio ante la presencia del olor materno, manifestada por una mayor absorción de 2-desoxiglucosa (2-DG) en la capa glomerular (Sullivan y Leon, 1986), por lo cual Pager (1983) sugiere que la relevancia biológica de un olor, puede incrementar la función de los sustratos neuronales responsables de la codificación del olor. También se han descrito cambios en la actividad eléctrica de las células mitrales y en penacho en presencia del olor materno experimentado y aprendido durante la lactancia (Sullivan y Leon, 1986; Salas y col., 1970).

Asimismo, se ha podido constatar que las crías pueden adquirir preferencia por cualquier olor artificial que se presente asociado a los cuidados maternos, tales como olores a frutas (Sullivan y col., 1986), especias (Sullivan y Wilson, 1991) o químicos sintéticos (Duveau y Godinot, 1988); siempre y cuando la intensidad del olor no llegue a ser aversiva. La respuesta de preferencia que presentan las crías a los olores artificiales son iguales a las que se observan ante el olor materno (Galef y Kaner, 1980; Wilson y Leon, 1988).

Planteamiento del Problema

Objetivos.-

Uno de los propósitos de este trabajo fue implementar un instrumento de evaluación conductual que nos permitiera cuantificar la capacidad de aprendizaje y discriminación olfatoria en crías de rata desnutridas, y que no dependiera de reforzadores apetitivos ni consecuencias aversivas.

Con ese instrumento se intentó determinar los efectos de la desnutrición a corto plazo sobre la capacidad de aprendizaje en la rata, ya que existen reportes sobre retrasos en los procesos de desarrollo, pero poco se ha explorado esta habilidad cognoscitiva olfatoria en ratas lactantes. Estos datos nos proporcionarían un correlato conductual de las alteraciones descritas en el bulbo olfatorio.

Hipótesis.-

Los estudios anteriores muestran que la desnutrición perinatal altera la estructuración y funcionamiento del bulbo olfatorio. Por ello proponemos que la capacidad de establecer una asociación olfatoria y de discriminar una fuente de olor en las crías de rata desnutridas pre y/o postnatalmente pudiera estar alterada, mostrando ellas un rendimiento deficiente en una prueba de discriminación del olor materno.

Así mismo, se trató de determinar el efecto diferencial de la desnutrición pre y postnatal sobre esta capacidad de asociación olfatoria, considerando que existen etapas distintas de vulnerabilidad en la ontogenia del bulbo olfatorio.

Procedimiento.-

Para comprobar esta hipótesis, se implementó un instrumento, mediante el cual se abordó el proceso de asociación de olores del nido y de los cuidados maternos, que como se mencionó anteriormente, es un modelo de aprendizaje temprano. Con ayuda de este instrumento se comparó la ejecución de diferentes grupos de crías lactantes que fueron

desnutridas durante la gestación y/o lactancia y sus controles, cuya crianza fue sometida a la influencia de olores naturales o de olores artificiales asociados al nido y a la madre.

Para caracterizar la capacidad de discriminación olfatoria en crías de rata desnutridas y sus controles, se diseñaron tres estrategias experimentales (Tabla 2) que consistieron de los siguientes grupos:

Experimento 1: Desnutrición postnatal (DES) y controles (CON).

Experimento 2: Desnutrición pre y postnatal (D - D) y desnutrición prenatal con rehabilitación postnatal (D - R).

Experimento 3: Desnutrición postnatal (D/AJO) y controles (C/AJO) con modificación del olor materno.

Tabla 2. Grupos que se probaron en cada experimento y la situación olfatoria en la que fueron evaluados.

Grupo	Contenedor 1	Contenedor 2
EXPERIMENTO 1 DES - CON	ASERRIN FRESCO	ASERRIN MATERNO
EXPERIMENTO 2 D - D - D - R	ASERRIN FRESCO	ASERRIN MATERNO
EXPERIMENTO 3 D/AJO - C/AJO	ASERRIN FRESCO ASERRIN MATERNO	ASERRIN MATERNO CON AJO ASERRIN MATERNO CON AJO

EXPERIMENTO 1

Con el primer experimento se pretendió determinar la capacidad de reconocer y elegir el olor materno en ratas desnutridas durante la lactancia (DES) y sus controles (CON), utilizando una prueba de discriminación olfatoria de dos opciones. En específico con esta prueba conductual se trató de caracterizar:

- La edad en que las crías podían mostrar respuestas correctas en esta prueba.
- Si la edad en la que se presentaban estas respuestas correctas difería en ambos grupos.
- Si la eficiencia de las respuestas en ambos grupos era distinta.
- Si existía influencia de lateralidad que modificara las preferencias mostradas por las crías.

Material y Método

Sujetos

Se utilizaron crías de rata, hembras (H) y machos (M) asignados a dos condiciones nutricionales, nacidas de hembras primíparas de la cepa Wistar, provenientes del bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

Durante el estudio se mantuvieron en condiciones de 14 horas de luz (07:00-21:00) por 10 de oscuridad (21:00-07:00) y con una temperatura ambiental aproximada de 24°C.

Obtención de Crías.-

Se aparearon ratas hembras vírgenes de aproximadamente tres meses de edad en una proporción de tres hembras por cada macho. Durante la gestación se mantuvieron estas hembras en grupos de 6 ratas en cajas de acrílico transparente (50 x 40 x 20 cm) y días previos al parto se cambiaron a cajas individuales de maternidad (45 x 30 x 20 cm) del mismo material. Durante este período, así como una vez nacidas las crías, las hembras tuvieron libre acceso al agua y alimento (Purina Chow).

Para determinar la fecha de parto se revisaron diariamente las cajas de maternidad por la mañana y por la noche. Cuando se observó a una hembra pariendo o se encontraron crías recién nacidas con la hembra, se designó esta fecha como día "cero" de edad.

El día 1 de edad postnatal se retiraron las crías de los nidos, se pesaron y se ajustaron las camadas a 10 crías, 5 hembras (H) y 5 machos (M), las cuales se asignaron aleatoriamente a cada hembra lactante. La mitad de las crías de cada camada (n=5) se asignó como grupo de desnutrición post-natal (DES) y las otras 5 crías se asignaron al grupo control (CON). Se procuró que la distribución de hembras y machos de cada grupo nutricional fuera proporcional.

Método de Desnutrición Postnatal.-

El procedimiento utilizado para desnutrir postnatalmente a las crías, fue el método de separación parcial de la camada. Con este método se reduce un 50% el tiempo de ingesta de alimento proporcionado por la hembra lactante y como consecuencia las crías se desnutren. Cabe mencionar que con este modelo experimental se ha producido efectivamente desnutrición en crías lactantes (Cragg, 1972; Fuller y Wiggins, 1984; Salas y col. 1984; Wiener y col. 1977).

Este método consiste en retirar diariamente del nido a las crías del grupo desnutrido (DES) y colocarlas en una incubadora a 29° - 30°C por un periodo de 12 horas (08:00 - 20:00). Las otras 12 horas se regresan nuevamente a sus respectivos nidos, para que estas puedan alimentarse (Fig. 2). De esta manera se reduce la oportunidad de las crías de succionar a la madre lactante, por lo que éstas se desnutren. Este procedimiento se llevó a cabo del día 1 al 12 de edad en que finalizaron las pruebas de olfacción. Por el contrario, las otras cinco crías de la camada asignada al grupo control (CON), permanecieron las 24 horas con libre acceso a la hembra lactante, con excepción de los periodos en que se evaluaron con la prueba de dos opciones de discriminación olfatoria.

Marcaje de Crías.-

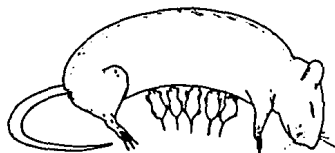
El día de formación de las camadas, se les cortó a las crías DES la primera falange de la segunda y tercera garra del miembro anterior derecho, de tal forma que se les pudiera diferenciar de sus controles al permanecer juntas las 12 horas que se les regresaba al nido. Asimismo, para poder identificar a las crías de cada camada al estar juntas en la incubadora y poder regresarlas a sus nidos correspondientes en las noches, se les pintó con un plumón un punto de color en la cabeza.

Control de Peso Corporal.-

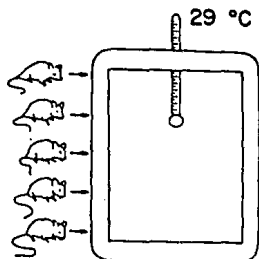
Como indicador del estado nutricional de las crías se tomaron medidas del peso corporal al formarse la camada el día 1 de edad; así como los días en que se les sometió a la prueba de discriminación olfatoria.

DIA

0800 - 2000



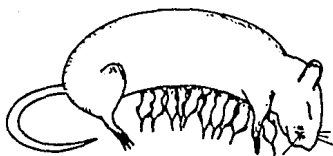
CON



DES

NOCHE

2000 - 0800



DES + CON

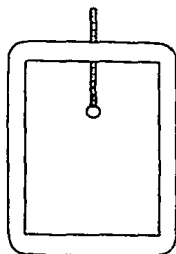


Fig. 2. Método de separación parcial de la camada utilizado en este estudio para desnutrir postnatalmente crías de rata.

Prueba de Discriminación Olfatoria.-

Esta prueba se efectuó durante la lactancia, del día 1 al 12 de edad, con la finalidad de determinar la capacidad de reconocimiento olfatorio, que sería un indicador del establecimiento de la preferencia del olor materno.

El aditamento utilizado, fue una prueba de dos opciones, la cual estaba constituida por una caja metálica con la superficie superior de tela de alambre (42 x 25 cm), la cual se encontraba dividida en dos secciones por medio de una franja intermedia (zona neutral) de 4 cm de ancho. En el interior de la caja y correspondiendo a cada sección se colocaron simultáneamente dos contenedores con aserrín, en uno se colocaba aserrín fresco (limpio) tomado de los sacos en que se distribuye y en la otra aserrín materno, tomado del nido (Fig. 3).

Con la finalidad de que el aserrín materno fuera lo suficientemente oloroso, este aserrín del nido no se cambió en su totalidad desde dos días previos al parto, sin embargo para evitar condiciones antihigiénicas para las crías, cada dos días se cambiaba parcialmente el aserrín sucio y se le agregaba aserrín limpio. El día que se llevaba a cabo la prueba conductual se tomaba parte del aserrín del nido de las crías, para colocarlo en una de los contenedores del aditamento de prueba.

En los casos en que fueron sometidas a la prueba de discriminación varias camadas en la misma sesión, fue tomado el aserrín de cada uno de los nidos y se colocaron juntos en un mismo contenedor, el cual se colocaba bajo la tela de alambre del aditamento de prueba.

Las hojas de registro que se utilizaron, eran tamaño carta, las cuales incluían los datos generales de la cría en turno de experimentación (edad, condición nutricional, color de camada, sexo, fecha de nacimiento, fecha del registro) y un esquema de la caja de registro, que se utilizó para dibujar la trayectoria que siguieron las crías durante la prueba, y para anotar el tiempo de ejecución (Fig. 4).

PRUEBA DE DISCRIMINACION OLFATORIA

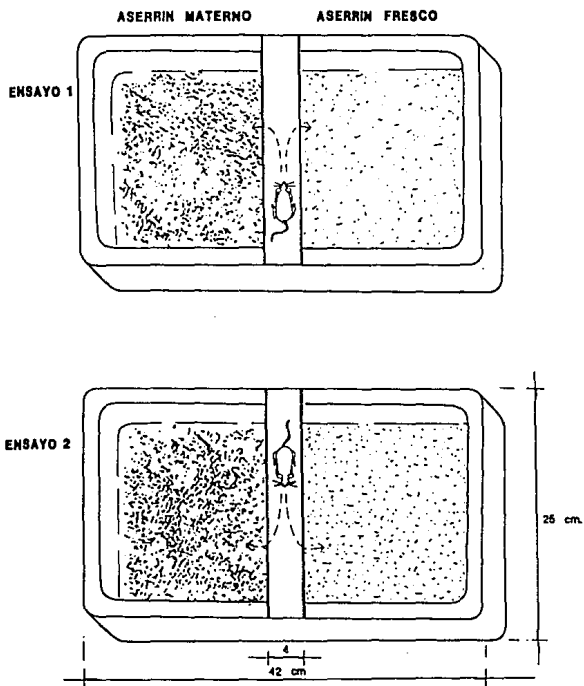


Fig. 3. Aditamento empleado como prueba de discriminación olfatoria de dos opciones para crías de rata.

La forma en que se realizaron las sesiones experimentales fue la siguiente:

1. La prueba se realizó del día 1 al 12 de edad postnatal.
2. Para evitar que las crías se familiarizaran con la situación experimental, se realizaron los registros conductuales de cada camada, cada tres días, por ejemplo: unas crías (N= 50 H + 50 M) se registraron los días 1, 4 y 7, otras camadas se registraron los días 2, 5, 8 y 12; y otras los días 3, 6, y 10 (N Total: 150 crías).
3. Se retiraron las crías DES y CON del nido 2 horas antes de iniciar el registro, periodo durante el cual no tuvieron acceso al alimento. Esta privación se realizó ya que en nuestros datos preliminares, así como en otros estudios (Hall y col., 1979; Sullivan y col. 1986) se ha observado que de esta forma se incrementa la actividad conductual de la cría y aumenta la posibilidad de que la cría responda a la situación experimental.
4. Las dos horas previas al registro y durante la prueba, las crías se mantuvieron dentro del cuarto de registro a una temperatura controlada aproximada entre 25°C - 27°C. Esto se realizó debido a que se ha observado que en las crías recién nacidas su capacidad termorreguladora es deficiente y la temperatura llega a ser un factor determinante para la emisión de respuestas. De ser la temperatura extrema (menor a 20°C o mayor a 40°C), las crías se inmovilizan o presentan conductas de evitación (Rosenblatt, 1983; Kleitman y Satinoff, 1982; Shurtleff y Tobach, 1979).
5. Para iniciar la prueba se colocó cada cría en la franja intermedia de la caja, quedando así, en cada extremo, ambas fuentes de olor (Fig. 3).
6. Durante la prueba, se anotaron en la hoja de registro los movimientos de la cría y el tiempo en que los realizó. Los movimientos que se consideraron dentro del registro fueron:
 - OLFATEO: tiempo que dedicó la cría a olfatear cualquiera de las dos fuentes de olor, dirigiendo para ello la nariz, cabeza o medio cuerpo, fuera de la franja intermedia.
 - ELECCION: desplazamiento de la cría hacia cualquiera de las dos fuentes de olor, dejando de tocar la franja intermedia.

- **LATENCIA DE ELECCION:** tiempo que requirió la cría para desplazar todo su cuerpo hacia cualquiera de las fuentes de olor, dejando de tocar la franja intermedia.
 - **PREFERENCIA :** debido a que no todas las crías se desplazaban hacia alguna de las fuentes de olor, mostrando así su elección; se consideró este parámetro para establecer si existía predominio por alguno de los olores, el cual se determinó considerando el tiempo y número de olfaciones hacia cada una de las fuentes olor y la elección de las crías, en los casos en que se desplazaron las crías.
7. El ensayo se dió por concluido cuando la cría se desplazó hacia cualquiera de las dos fuentes de olor dejando de tocar la franja intermedia mostrando con ello una elección, o bien cuando habían transcurrido 120 segundos de iniciado el ensayo y que la cría permanecía sobre la franja intermedia.
 8. Se realizó un segundo ensayo en el que se cambió la orientación de la cría dentro de la caja con la finalidad de descartar posibles efectos de lateralidad (Fig. 3).

Análisis Estadístico.-

Los datos se procesaron con los programas estadísticos para computadora ANDEVA y COMPAMUL (elaborado Mtro. en ciencias Miguel Angel Guevara), con los cuales se calcularon media y error estándar de cada parámetro clasificados por grupo nutricional y edad. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de muestras completamente aleatorizadas de dos factores, nutrición (2 niveles) x edad (10 niveles) para determinar la influencia de la condición nutricional los cambios por la edad, así como la interacción de ambos factores para cada parámetro. Posteriormente se utilizó una prueba de Duncan, para determinar las diferencias entre ambos grupos nutricionales día por día.

Resultados

Peso Corporal.-

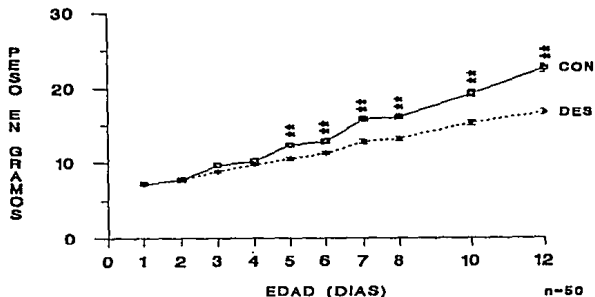
A partir del día 5 de edad, se observaron efectos significativos de la nutrición sobre el peso corporal de las crías ($p < 0.001$), ya que las crías DES desde esa edad presentaron pesos menores, llegando a tener un déficit del 26% de peso corporal para el día 12 de edad (Fig. 5). De acuerdo con el análisis de varianza, el factor nutrición tuvo influencia significativa sobre esta característica evaluada ($p < 0.0001$), así como el factor edad ($p < 0.0001$).

Tiempo de Olfacción.-

Se observó que desde el día 1 de edad, ambos grupos exploraron olfatoriamente durante periodos más prolongados el aserrín materno que el aserrín fresco, pero las crías DES dedicaron menor tiempo a olfatear cualquiera de los dos tipos de aserrines como puede observarse en la Fig. 6.

De acuerdo al análisis de varianza (Anexo 1) la desnutrición ejerció un efecto significativo sobre este parámetro ($P < 0.04$). En ambos ensayos, se observó que las crías DES dedicaron menor tiempo a olfatear ambas fuentes de olor que el grupo CON. A partir del día 5 de edad fue más evidente que las crías DES dedicaron menor tiempo a olfatear el aserrín materno en comparación con las crías CON. Por otra parte, se observó que las crías DES también dedicaron menor tiempo a explorar olfatoriamente el aserrín fresco en comparación con las crías CON y esta diferencia fue estadísticamente significativa ($P < 0.026$).

PESO CORPORAL



F(10,89) 32.45; P<0.0001

Fig. 5. Medias y error estándar del peso corporal de las crías DES y CON. Los resultados obtenidos con el ANOVA indicaron que el factor nutricional ejerció una influencia significativa sobre el peso corporal ($p < 0.0001$), mostrando las crías DES a partir del día 5 de edad una disminución significativa en el peso corporal en comparación a sus controles.

- $p < 0.05$
- ** $p < 0.01$

TIEMPO DE OLFACION

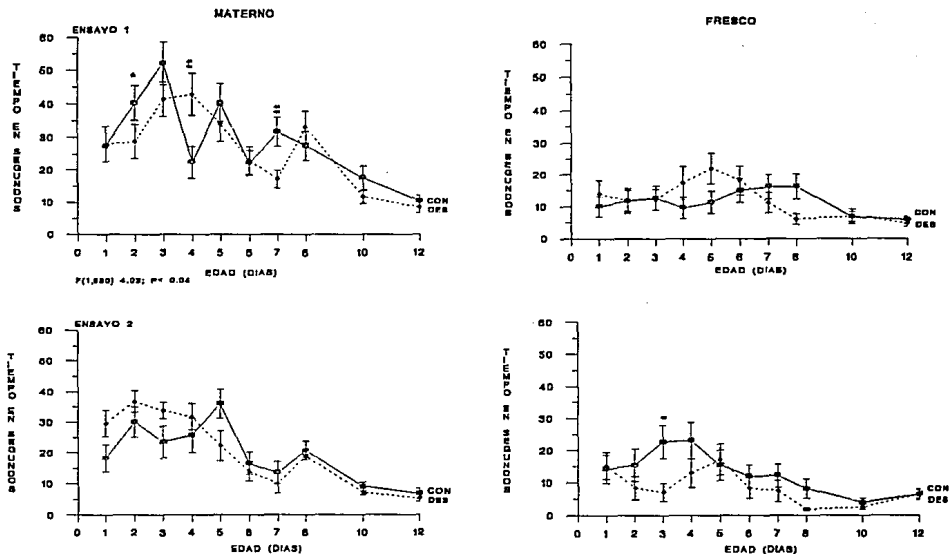


Fig. 6. Medias y error estándar del tiempo que las crías DES y CON dedicaron a explorar olfatorialmente las fuentes de olor materno y fresco, en la prueba de discriminación olfatoria. Como se puede observar en las gráficas, el ANOVA mostró diferencias significativas entre estos grupos.

• $p < 0.05$

•• $p < 0.01$

El factor edad ejerció también influencia significativa sobre el tiempo dedicado a olfatear ($P < 0.001$), ya que como puede observarse en la Fig. 6, en los últimos días en que se realizó la prueba se presentó una disminución en el tiempo de olfacción en ambos grupos de crías. Lo cual posiblemente se deba a que las crías a esta edad mostraron una mayor facilidad para desplazarse hacia cualquiera de las fuentes de olor, lo cual redujo el tiempo dedicado exclusivamente a la exploración olfatoria. La interacción de ambos factores también resultó significativa a un nivel de $P < 0.005$.

Elección.-

En ambos grupos mayor número de crías se desplazaron hacia el aserrín materno que al fresco y esto se observó desde el día 3 de edad. Aunque el número de crías que se desplazaron al aserrín fresco fue mínimo, en proporción la mayor cantidad de crías que se desplazaron a éste, fueron las crías CON.

En ambos ensayos hubo una influencia significativa del factor nutrición ($p < 0.001$) ya que desde el día 3 de edad, mayor número de crías DES eligieron el aserrín materno y para el día 6 de edad más del 50% de estas crías, se desplazaban hacia dicha fuente de olor alcanzando una proporción del 92% el día 7 de edad; mientras que el grupo de crías CON alcanzó la proporción del 50% hasta el día 7 de edad y la máxima proporción de crías que se desplazaron al aserrín materno fue del 78% en el día 12 de edad, como se muestra en la Fig. 7. En menor proporción las crías de ambos grupos se desplazaron hacia el aserrín fresco, en los primeros días mayor número de crías DES se desplazaron a esta fuente de olor sin ser una diferencia significativa con los CON y esta tendencia desapareció desde el día 6 de edad.

En ambos ensayos se observó influencia significativa del factor edad ($p < 0.001$) y de la interacción de los factores ($p < 0.04$).

ELECCION

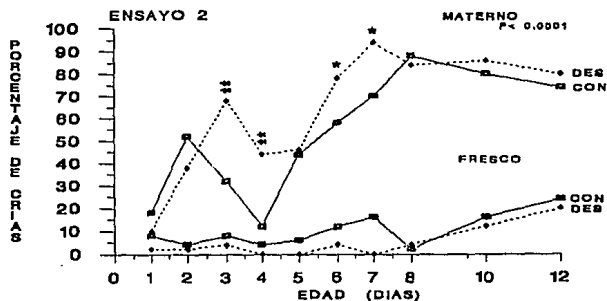
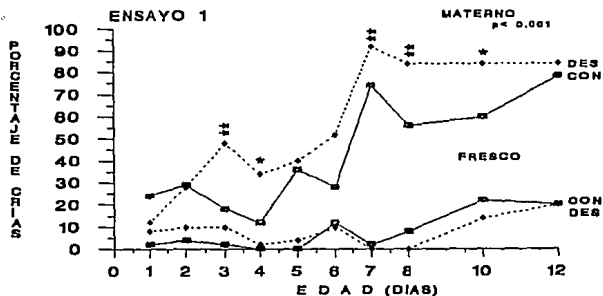


Fig. 7. Porcentajes del número de crías DES y CON que mostraron su elección desplazándose hacia alguna de las dos fuentes de olor. En este parámetro como se observa en las gráficas, los datos proporcionados por el ANOVA indicaron que la condición nutricional tuvo efectos significativos en la elección del aserrín materno en ambos ensayos.

- $p < 0.05$
- ** $p < 0.01$

Latencia.-

Las crías DES se desplazaron a alguna de las dos fuentes de olor más rápido que las CON. De acuerdo con el ANOVA (Anexo 1) la influencia del factor nutricional fue significativa ($p < 0.001$), al igual que la influencia del factor edad ($p < 0.001$) ya que como se observa en la Fig. 8 el tiempo que requirieron las crías de ambos grupos para desplazarse a cualquiera de las fuentes de olor fue inversamente proporcional a su edad, esto es, la latencia de elección disminuyó a medida que las crías fueron capaces de desplazarse y esta capacidad locomotora la fueron adquiriendo con la edad.

Finalmente, no se observó influencia significativa en la interacción de ambos factores.

Preferencia.-

La tendencia en general de las crías fue el olfatear y desplazarse con mayor frecuencia hacia el aserrín materno que al aserrín fresco desde el día 1 de edad. El factor nutricional ejerció influencia significativa sobre este parámetro ($p < 0.05$) y por lo tanto, en esta respuesta se observó que mayor proporción de crías DES mostraban esta preferencia en comparación de sus CON (Fig. 9).

En ambos ensayos se encontró que desde el día 3 de edad, mayor número de crías DES prefirieron el aserrín materno de forma significativa, de tal forma que para el día 7 de edad el 92% de estas mostraron dicha preferencia. Por otra parte, las crías CON mostraron menor preferencia a esta fuente de olor y en ninguna de las edades éstas mostraron una proporción tan alta como la de las DES en cuanto a su preferencia. Las crías CON mostraron mayor preferencia al aserrín fresco que las crías DES y de forma significativa ($p < .012$).

Por otra parte, el ANOVA indicó también un efecto significativo ejercido por el factor edad ($p < 0.001$), pero no mostró diferencias por la interacción de los dos factores.

LATENCIA

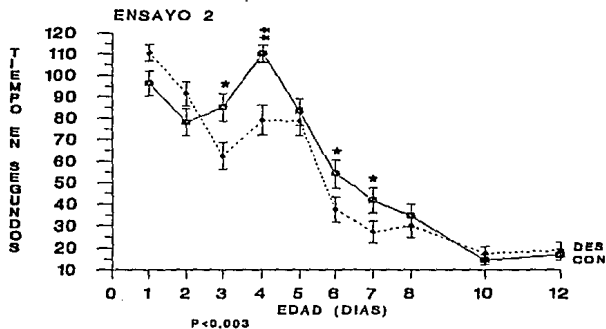
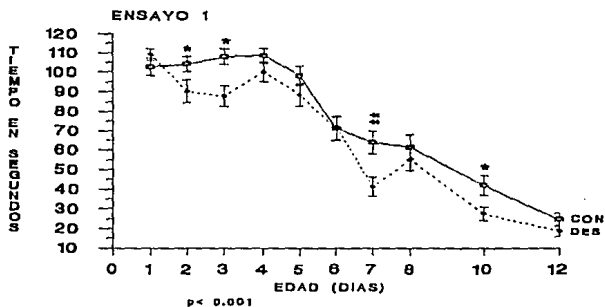


Fig.8. Medias y error estándar de la latencia de elección o tiempo que requirieron las crías DES y CON para desplazarse a cualquiera de las fuentes de olor materno y fresco. Como lo muestra la gráfica, la condición nutricional tuvo efectos significativos dado que las crías DES se desplazaron con mayor rapidez hacia alguna de las fuentes de olor.

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

PREFERENCIA

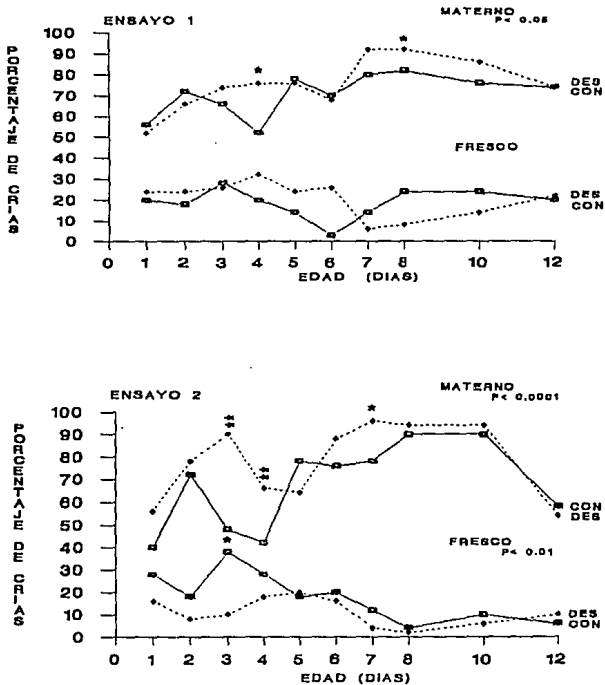


Fig. 9. Porcentaje de crías DES y CON que mostraron su preferencia hacia alguna de las dos fuentes de olor. El ANOVA mostró que la desnutrición tuvo efectos significativos en la preferencia que mostraron las crías en los dos ensayos. Como se puede observar en las gráficas mayor número de crías de ambos grupos prefirieron el olor materno.

- $p < 0.05$
- $p < 0.01$

CONCLUSIONES

1. La prueba de dos opciones empleada para evaluar la respuesta de discriminación olfatoria en crías de rata, mostró ser un instrumento efectivo para determinar la respuesta olfatoria y permitió eliminar casi por completo factores de desarrollo motor, ya que la respuesta motora requerida de la cría era mínima.
2. En ambos grupos se observó que las crías mostraron respuestas selectivas al olor materno desde muy temprana edad, ya que en esta prueba fueron capaces de exhibir reconocimiento olfatorio y/o desplazarse hacia el olor materno desde el día 1 de edad y a partir del día 3 las respuestas selectivas de las crías hacia el olor materno fueron muy consistentes.
3. La desnutrición postnatal no afectó la capacidad de las crías para adquirir una preferencia por el olor materno, ni para mostrar una respuesta discriminatoria en la prueba de dos opciones. Sin embargo, en las crías DES se observaron respuestas más persistentes para desplazarse hacia esa fuente de olor, como lo muestran los parámetros de elección, latencia y preferencia.
4. De acuerdo al parámetro tiempo de olfacción, las crías DES mostraron pobre exploración olfatoria de las fuentes de olor. En parte esto pudo ser consecuencia de que éstas se desplazaban con mayor rapidez que las CON hacia alguna de las fuentes de olor (materno). Estos datos apoyan estudios previos que describieron que en crías desnutridas su conducta exploratoria se ve disminuída por la persistencia de la cría a permanecer en el nido (Franková, 1973).
5. El ensayo 1 mostró resultados similares a los del ensayo 2 en todos los parámetros , por lo que se puede concluir que no hay lateralidad en la respuesta olfatoria de las crías.
6. La rapidez del grupo DES a desplazarse al aserrín materno que se observó a partir del día 3 de edad, puede reflejar una alta motivación de las crías DES por regresar al nido, que

podiera deberse a la privación de alimentos a la que estaban sometidas durante este periodo de lactancia.

7. Las diferencias entre los grupos DES y CON no confirmaron la hipótesis de que pudiera estar decrementada la capacidad de establecer asociaciones olfatorias en crías desnutridas durante la lactancia. Por el contrario, las crías desnutridas mostraron una respuesta eficiente en la prueba de discriminación olfatoria.

EXPERIMENTO 2

La desnutrición postnatal no ejerció influencia sobre la capacidad de discriminación olfatoria en crías de rata. Como ya se mencionó, el proceso de reconocimiento olfatorio en la crías se establece en una fase temprana de la lactancia (día 1-8 de edad). De acuerdo a Sullivan y Leon (1986) esta respuesta empieza a manifestarse desde el día 1 de edad y con registros de actividad eléctrica del bulbo olfatorio Salas y col. (1970) mostraron que las crías responden específicamente al olor materno desde el día 3 o 4 de edad. Lo cual nos sugiere que los mecanismos neuronales que median este mecanismo se establecen prenatalmente y no necesariamente se modifican por una desnutrición postnatal.

Como segunda estrategia, se trató de determinar y medir las posibles alteraciones en la capacidad de discriminación olfatoria asociada a la desnutrición prenatal; ya que de esta forma la desnutrición abarcaría periodos críticos tempranos de desarrollo, pudiendo alterar en diferente intensidad las capacidades olfatorias y cognitivas de las crías.

Para tal efecto, este experimento se realizó desnutriendo crías pre y postnatalmente y comparando su ejecución dentro de la prueba de discriminación olfatoria con otro grupo de crías desnutridas prenatalmente y rehabilitadas durante la lactancia.

Esta estrategia se utilizó, ya que se ha encontrado que la disminución de los nutrientes durante la gestación produce retrasos en el crecimiento intrauterino, manifestado por una reducción en el tamaño y peso de la placenta y una reducción del flujo sanguíneo de la placenta al feto, de tal manera que disminuye importantemente el transporte de oxígeno y nutrientes al feto y se perturba el desarrollo cerebral del feto (Morgane, 1993, Tonkiss y col., 1993).

Material y Método

Sujetos.-

Se utilizaron grupos de 60 crías de rata (30H y 30 M) de la cepa Wistar asignadas a dos grupos de distinta condición nutricional (n= 15H y 15M), y estas se mantuvieron en las mismas condiciones que en el experimento anterior.

Estrategia de Desnutrición Prenatal.-

Se utilizaron ratas vírgenes normales de aproximadamente 3 meses de edad y de un peso promedio de 220 gramos, a las cuales se les redujo en un 50% su dieta diaria con la finalidad de desnutrirlas durante la gestación.

Estas ratas se alojaron distribuidas en grupos de 6 a 8 hembras en cajas de acrílico transparente (50 x 40 x 20 cm) y se proporcionaron 10 gramos por individuo de alimento diario a cada caja, correspondiendo al 50% del consumo diario normal. Dicho procedimiento se llevó a cabo durante 2 semanas, y se realizó con la finalidad de disminuir los niveles de nutrientes de la hembra. El 50% de alimento se calculó de acuerdo al consumo diario de un grupo de hembras control que se monitorearon antes y durante la gestación, hasta el día del parto.

A las dos semanas de instaurada esta dieta se aparearon estas hembras desnutridas de la siguiente manera: se les proporcionó el alimento a las 09:00 de la mañana, el cual consumían en 1 hora aproximadamente. Posteriormente, a las 14:00 horas se colocaron en cajas de acrílico transparente (50 x 40 x 20 cm) junto con los machos en la siguiente proporción: dos hembras por cada macho. Estas ratas permanecieron juntas desde las 14:00 a las 09:00 del día siguiente, tiempo durante el cual tuvieron únicamente acceso libre al agua y no se les proporcionó alimento. Durante el periodo de las 09:00 a las 14:00 horas, se regresó a los machos a sus cajas correspondientes para que estos se alimentaran libremente; de igual forma se colocó a las hembras en sus cajas y se les proporcionó 10 g. de alimento. Este procedimiento de cruce se llevó a cabo durante 10 a 15 días y posteriormente las hembras se

alojaron en cajas individuales (45 x 30 x 20 cm) con la finalidad de mantenerlas en observación y continuar con su dieta del 50%. Durante la primera parte de la gestación, la cantidad de alimento proporcionado a las hembras fue de 10 gramos y en los 7 días previos al parto, la cantidad de alimento proporcionado fue de 12 gramos; este aumento en la cantidad de alimento se realizó de acuerdo con el consumo de las hembras control monitoreadas. El último día de la gestación y antes de iniciarse el parto se les permitió acceso libre al alimento para evitar que la hembra se comiera a las crías al nacer. Una vez nacidas las crías las hembras continuaron teniendo acceso libre al alimento y para la mitad de las crías la desnutrición postnatal se continuó con el método de separación parcial de la camada.

Se registró periódicamente el peso corporal de estas hembras, al inicio de la desnutrición, el primer día en que se cruzaron y el día del parto. Estos pesos corporales fueron comparados con los pesos de hembras bien nutridas en los mismos periodos considerados para las hembras desnutridas.

Para determinar la fecha de parto, se siguió el mismo procedimiento que en el experimento anterior.

Obtención de Crías.-

Al día 1 de edad se retiraron las crías de los nidos, las camadas se pesaron y ajustaron de manera similar al experimento anterior. La mitad de las crías de cada camada (n=5) se asignaron al grupo de desnutrición prenatal y rehabilitación postnatal (D - R) las cuales durante la lactancia tuvieron libre acceso al alimento y las otras 5 crías se designaron como grupo de desnutrición pre y postnatal (D - D). De tal manera, que las crías D - D continuaron en una situación de desnutrición durante la lactancia impuesta por el método de separación parcial de la camada ya descrito anteriormente.

Evaluación de las crías.-

De igual forma que en el experimento anterior, se llevó a cabo el marcaje y el control del peso corporal de las crías. La prueba de discriminación olfatoria se realizó en un solo ensayo ya que no se observaron efectos de lateralidad en el experimento 1.

Análisis Estadístico.-

Los datos se procesaron con las mismas pruebas estadísticas descritas anteriormente.

Resultados

Peso Corporal de las Hembras.-

Se observó que las hembras sometidas a desnutrición por reducción del alimento al 50% presentaron un decremento significativo ($P < 0.001$) en el peso corporal el día en el que se inició la cruce; así como en los días previos al parto en el que mostraron una disminución significativa ($P < 0.001$) en comparación con sus controles (Tabla 3).

Tabla 3. Comparación de las medias obtenidas del peso corporal de las hembras CON y DES 50%

MEDICIONES	CON	DES 50%
LINEA BASE	230 \pm 5.6 g	228 \pm 4.4 g
CRUZA	253.5 \pm 6.8 g	195.4 \pm 4.1 g
PARTO	350.6 \pm 5.5 g	265 \pm 7.6 g

Peso Corporal de las Crías.-

Las crías nacidas de hembras desnutridas 50%, en el día 1 postnatal tuvieron un peso corporal promedio de 5.94 \pm 0.2 g., mientras que las crías del experimento 1 nacidas de hembras bien nutridas, el peso que presentaron el día 1 de edad fue de 7.6 \pm 0.18 g.; estos datos señalan un efecto importante de nuestro procedimiento de desnutrición prenatal sobre el crecimiento de las crías (Fig.10).

PESO CORPORAL

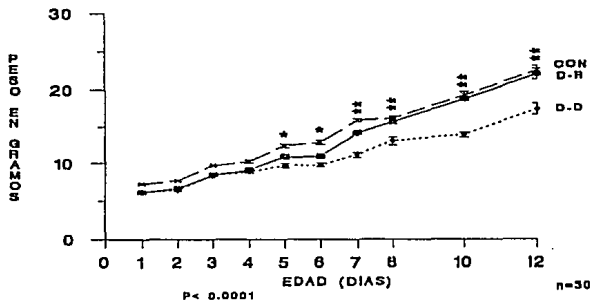


Fig. 10. Medias y error estándar del peso corporal de las crías D - D, D - R y CON. Los resultados obtenidos con el ANOVA indicaron que el factor nutricional ejerció una influencia significativa sobre el peso corporal ($p < 0.0001$), mostrando las crías D - D a partir del día 5 de edad una disminución significativa en el peso corporal en comparación a sus controles.

- $p < 0.05$
- ** $p < 0.01$

Durante la lactancia las crías D - R mostraron una mayor tasa de crecimiento corporal que las crías D - D, de manera que a partir del día 5 de edad se observó una diferencia significativa en el peso corporal de ambos grupos y las crías D - D llegaron a tener un déficit del 21% para el día 12 de edad en comparación con las crías D - R, mientras que estas últimas se recuperaron y alcanzaron pesos similares a las CON (experimento 1). El análisis de varianza mostró que el factor nutricional tuvo efectos significativos sobre el peso corporal de las crías ($p < 0.0001$) al igual que el factor edad ($p < 0.0001$).

Tiempo de Olfacción.-

Se observó que a partir del día 1 de edad, las crías de ambos grupos dedicaron mayor tiempo a explorar olfatoriamente el aserrín materno, en comparación al aserrín fresco.

Al igual que en el experimento 1 el factor edad tuvo efectos significativos (Anexo 1) en este parámetro, por lo que esta tendencia a explorar olfatoriamente las fuentes de olor fue decreciendo en función de la edad (Fig. 11). No se observaron efectos por el factor nutrición ni por la interacción de ambos factores.

Elección.-

Mayor número de crías de ambos grupos, se desplazaron al aserrín materno a partir del día 2 de edad.

Como se observa en la gráfica 12, a partir del día 3 de edad mayor número de crías D - D se desplazaron hacia el aserrín materno y para el día 5 de edad más del 57% de estas crías se desplazaron hacia dicha fuente de olor, alcanzando una proporción del 73% el día 7 de edad; mientras que las crías D - R alcanzaron dichas proporciones hasta el día 7 y 8 de edad respectivamente. El Anova confirmó que la condición nutricional tuvo efectos significativos ($P < 0.006$) en la elección del aserrín materno.

TIEMPO DE OLFACION

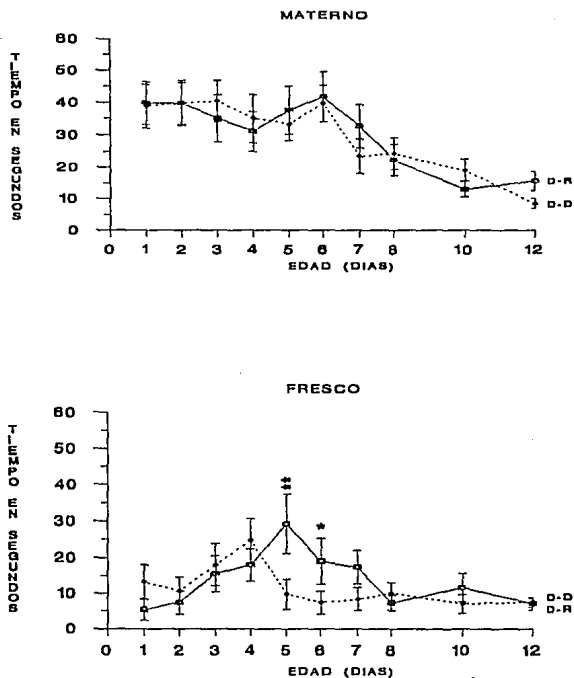


Fig. 11. Medias y error estándar del tiempo que las crías D - D y D - R dedicaron a explorar olfatoriamente las fuentes de olor materno y fresco, en la prueba de discriminación olfatoria. Como se puede observar en las gráficas, el ANOVA no mostró diferencias significativas asociadas a la condición nutricional de las crías, con excepción de los días 5 y 6 de edad.

- $p < 0.05$
- $p < 0.01$

ELECCION

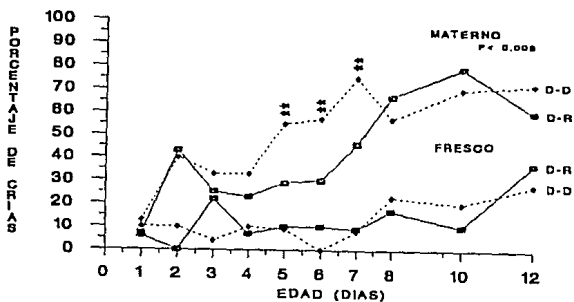


Fig. 12. Porcentajes del número de crías D - D y D - R que mostraron su elección desplazándose hacia alguna de las dos fuentes de olor. En este parámetro como se observa en la gráfica, los datos proporcionados por el ANOVA indicaron que la condición nutricional tuvo efectos significativos en la elección del aserrín materno.

- * $p < 0.05$
- ** $p < 0.01$

En menor proporción las crías de ambos grupos se desplazaron hacia el aserrín fresco y no se observó ninguna diferencia entre los grupos. Por otra parte, al día 12 de edad el 37% de las crías D - R eligieron el aserrín fresco, mientras que en el grupo D - D mostraron como máxima proporción el 26% en esta misma edad.

El Anova mostró efectos significativos asociados al factor edad ($p < 0.001$) pero no a la interacción de ambos factores (Anexo 1).

Latencia.-

A partir del día 1 de edad las crías D - D mostraron latencias menores para desplazarse hacia alguna fuente de olor en comparación con las crías D - R aunque esta tendencia desapareció los últimos días de registro - 8 y 10-. Como se muestra en el anexo 1, la latencia de elección mostrada por las crías se vió afectada por la condición nutricional, ya que esta tuvo efectos significativos en lo que se refiere a este parámetro.

Al igual que en el experimento 1 el factor edad tuvo efectos significativos ($p < 0.001$) en este parámetro, en el que se observó una clara tendencia con la edad en ambos grupos de crías, a reducir el tiempo que requirieron para desplazarse a cualquiera de las fuentes de olor(Fig.13).

Preferencia.-

En lo que se refiere a la exploración olfatoria y desplazamiento hacia alguna de las fuentes de olor, se observó que mayor número de crías mostraron preferencia por el aserrín materno que por el fresco (Fig. 14) y esta respuesta se observó a partir del día 1 de edad. Sin embargo, el análisis de varianza no mostró efectos significativos asociados a la condición nutricional, ni a la edad o a la interacción de los factores (Anexo 1).

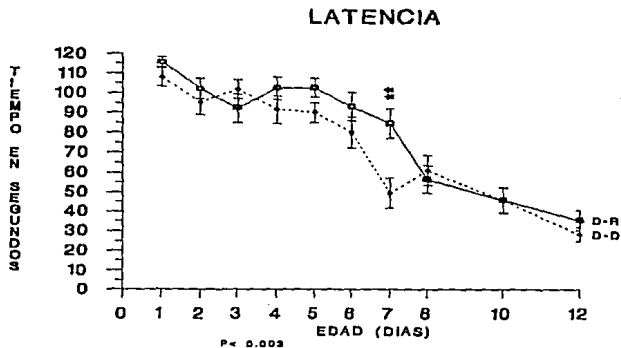


Fig. 13. Medias y error estándar de la latencia de elección o tiempo que requirieron las crías D - D y D - R para desplazarse a cualquiera de las fuentes de olor materno y fresco. Como lo muestra la gráfica, la condición nutricional tuvo efectos significativos dado que las crías DES se desplazaron con mayor rapidez hacia alguna de las fuentes de olor.

- $p < 0,05$
- $p < 0,01$

PREFERENCIA

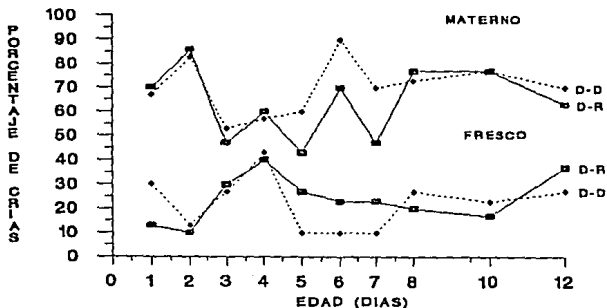


Fig. 14. Porcentaje de crías D - D y D -R que mostraron su preferencia hacia alguna de las dos fuentes de olor. El ANOVA mostró que la desnutrición no tuvo efectos significativos en la preferencia que mostraron las crías. Como se puede observar en las gráficas mayor número de crías de ambos grupos prefirieron el olor materno.

Conclusiones

1. La reducción al 50% de la dieta materna produjo efectivamente poca ganancia de peso de las hembras durante la gestación. Esto ocasionó una desnutrición prenatal en las crías que se reflejó en el bajo peso corporal de los grupos de crías D - R y D - D al nacimiento.
2. La rehabilitación nutricional durante la lactancia promovió un crecimiento corporal en las crías D - R tal, que para el día 12 habían alcanzado el peso corporal de las crías CON. Por el contrario, en las crías D-D se mantuvo significativamente bajo el peso corporal.
3. Las crías de rata D - R y D - D fueron capaces de detectar el olor materno y de mostrar una respuesta de elección, desplazándose hacia esa fuente de olor en una prueba de 2 opciones. Lo cual sugiere que la desnutrición prenatal y/o postnatal no altera la eficiencia de esta respuesta.
4. Las crías D - D fueron más persistentes a desplazarse y elegir el aserrín materno que las crías D - R y su latencia para elegirlo fue menor del día 5 al 8 de edad, debido posiblemente a una motivación generada por la privación de alimento a la que fueron sometidas. Sin embargo, en comparación con los grupos del experimento 1, estos grupos tuvieron latencias ligeramente mayores para desplazarse a una de las fuentes de olor.
5. El rendimiento del grupo D - D en los demás parámetros de la prueba de discriminación olfatoria fue muy similar al del grupo DES y el rendimiento del grupo D - R fue similar al del grupo CON. Lo cual sugiere una influencia importante de la condición nutricional postnatal sobre la respuesta en la prueba de discriminación olfatoria.
6. El rendimiento de los grupos D - R y D - D en la prueba de discriminación olfatoria, no confirmó la hipótesis de que la desnutrición prenatal pudiera alterar la capacidad de adquirir y discriminar el olor materno.

EXPERIMENTO 3

A pesar de la inmadurez que posee el bulbo olfatorio al momento del nacimiento y del retraso en el desarrollo asociado a la desnutrición (Debasio y Kemper, 1985), las crías desnutridas de rata pre y/o postnatalmente, mostraron la capacidad de adquirir una preferencia olfatoria en la prueba de discriminación olfatoria. Como ya se mencionó, esta preferencia resulta de un proceso de aprendizaje en el que generalmente se asocian los olores del nido y la hembra lactante con los cuidados maternos y la succión. De acuerdo a esto, se ha comprobado que de igual manera las crías pueden asociar olores artificiales agregados al nido o al cuidado materno (Wilson y Leon, 1988; Galef y Kaner, 1980; Sullivan y col., 1986).

Con este último paradigma se probó a ratas desnutridas y sus controles con el fin de determinar su capacidad de formar preferencias a olores artificiales lo cual sería un índice definitivo de su capacidad de aprendizaje olfatorio temprano.

Ya que los olores del nido y de la madre están primordialmente determinados por la dieta materna y de esta depende la preferencia a dicho olor; en este experimento se modificó el olor materno administrando sustancias artificiales al nido y al agua de ingesta diaria de las hembras lactantes, con la finalidad de que las crías asociaran dicho olor artificial con la estimulación proporcionada por la madre durante los cuidados maternos y el amamantamiento. Se probaron inicialmente esencias florales y frutales que se agregaban al aserrín y directamente al vientre materno. Sin embargo, por su volatilidad se impregnaba todo el bioterio y el olor utilizado en pocas horas se desvanecía. Se eligió entonces el ajo, porque al beberlo la hembra, se impregna su saliva y al lamerse transmite su olor al vientre; también, porque el ajo pasa a las glándulas sebáceas y los bolos fecales.

Material y Método

Obtención de Crías.-

Se utilizaron grupos de 50 crías de rata, nacidas de hembras primíparas de la cepa Wistar divididas en dos grupos (N= 12 H y 13 M) de distinta condición nutricional (desnutrición postnatal D/AJO y sus controles C/AJO).

Este experimento, se realizó de la misma forma que el experimento 1, en lo que se refiere al tipo de hembras utilizadas, su cruce, alojamiento y alimentación.

Modificación del Olor Materno y del Nido.-

Para agregar un olor artificial al ambiente del nido y a la hembra lactante, 3 o 4 días previos al parto y durante la lactancia, se le agregó concentrado de ajo al agua del bebedero (0.5 g/180 ml) de cada hembra gestante. Se escogió esta concentración de ajo ya que se constató que concentraciones mayores decrementaban la cantidad de agua que bebían las hembras. También se roció diariamente el aserrín del nido de estas hembras con un concentrado de ajo (10 g/250 ml) hasta el día en que fueron concluidas las pruebas de discriminación olfatoria (Fig. 15). De tal manera, al nacimiento de las crías y durante la lactancia el olor imperante asociado a la hembra y al nido fue el ajo.

Con la finalidad de distinguir si la ingesta de agua se hallaba disminuida por la presencia del ajo, a partir del primer día en que a las hembras gestantes se les agregó el concentrado de ajo en el agua, se midió diariamente el consumo de agua de estas hembras y se comparó con la ingesta de agua de hembras en condiciones normales.

Procedimiento de Desnutrición.-

En cuanto al método de desnutrición postnatal (método de separación parcial de la camada), determinación de la fecha de nacimiento, marcaje de las crías, control de peso corporal, se realizó de la misma forma que en los experimentos anteriores.

DOSIFICACION DE EXTRACTO DE AJO EN EL AGUA Y EL ASERRIN DE HEMBRAS LACTANTES

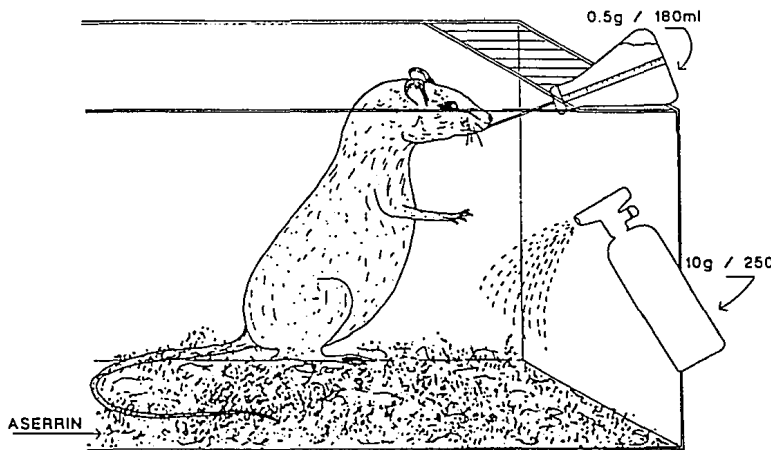


Fig. 15. Estrategia empleada para dosificar el ajo en el agua de las hembras lactantes y en el aserrín del nido.

Prueba de Discriminación Olfatoria.-

La prueba de discriminación olfatoria y la estrategia de registro de la misma, se realizó de igual manera que en el experimento 1. En este experimento se realizaron dos ensayos en los cuales se modificaron las fuentes de olor a discriminar de la siguiente forma:

- A. MATERNO CON AJO Vs A. FRESCO.- En este se comparó la ejecución de las crías CIAJO y D/AJO, ante la presencia del aserrín materno con ajo (el cual fue obtenido del nido de las madres que durante la gestación y lactancia se les había agregado el concentrado de ajo) y aserrín fresco (limpio).
- A. MATERNO CON AJO Vs A. MATERNO.- En este se comparó la ejecución de las crías CIAJO y D/AJO, ante la presencia del aserrín materno con ajo y aserrín materno (el cual fue obtenido del nido de hembras lactantes que durante la gestación y la lactancia fueron mantenidas en condiciones normales).

Resultados

INGESTA DE AGUA.-

De acuerdo a los registros que se realizaron diariamente sobre la ingesta de agua en hembras que recibieron el concentrado de ajo y sus controles, no se observaron diferencias entre ambos grupos. Los días previos al parto, el consumo promedio de agua de las hembras fue de 40 - 50 ml. El día de parto decrementó la ingesta a 10 ml y fue incrementándose en los días posteriores hasta alcanzar valores de 80 - 90 ml por hembra para el día 12 de lactancia, día en que se suspendió este registro.

Pesos Corporales.-

Al igual que en el experimento 1, se observó que a partir del día 5 de edad hubo una disminución significativa en el peso corporal de las crías D/AJO llegando estas a tener un déficit del 26% para el día 12 de edad, en comparación con las crías C/AJO (Fig.16). Los pesos corporales fueron similares a los de los grupos DES y CON del experimento 1, lo cual señala que el ajo en el agua materna no modificó el ritmo de crecimiento de las crías.

El análisis de varianza mostró que el factor nutricional tuvo efectos significativos ($P < 0.0001$) sobre el peso corporal de las crías, al igual que el factor edad ($p < 0.0001$).

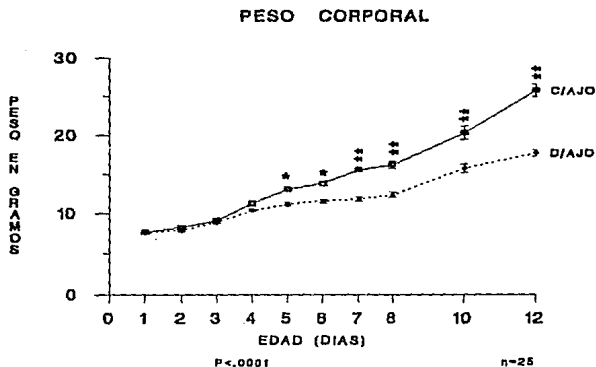


Fig. 16. Medias y error estándar del peso corporal de las crías D/AJO y C/AJO. Los resultados obtenidos con el ANOVA indicaron que el factor nutricional ejerció una influencia significativa sobre el peso corporal ($p < 0.0001$), mostrando las crías D/AJO a partir del día 5 de edad una disminución significativa en el peso corporal en comparación a sus controles.

- $p < 0.05$
- ** $p < 0.01$

A. Materno con Ajo Vs A. Fresco

Tiempo de Olfacción.-

Se observó que las crías de ambos grupos dedicaron mayor cantidad de tiempo a explorar olfatoriamente el aserrín materno con ajo en comparación al aserrín fresco (Fig. 17), y que a su vez las crías D/AJO dedicaron menor cantidad de tiempo a explorar olfatoriamente el aserrín materno con ajo, en comparación con las crías C/AJO ($p < 0.01$); esta respuesta fue modificándose con la edad y como se muestra en el Anexo 1 el ANOVA no mostró efectos significativos en la interacción de ambos factores.

Elección.-

Desde el día 1 al 12 de edad se observó que mayor número de crías de ambos grupos se desplazaron al olor materno con ajo en comparación al aserrín fresco (Fig. 18).

A partir del día 4 de edad se observó de forma significativa ($p < 0.01$) que mayor número de crías D/AJO eligieron el aserrín materno con ajo, en comparación con sus controles. Esta tendencia de elección fue similar a la que se había observado en los otros experimentos.

Como se muestra en el anexo 1 también la edad tuvo efectos significativos en la elección de fuente de olor mostrada por las crías.

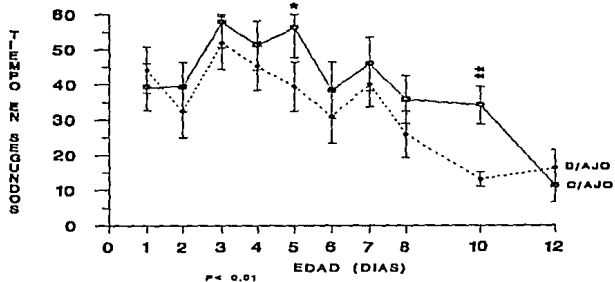
Latencia.-

Al igual que en los dos experimentos anteriores se observó de forma significativa ($p < 0.001$) que las crías desnutridas (D/AJO) presentaron una clara tendencia de desplazarse con mayor rapidez hacia alguna de las fuentes de olor, a comparación de las crías C/AJO (Fig. 19) y que la latencia disminuye con la edad de forma significativa ($p < 0.001$).

Los resultados del ANOVA se muestran en el Anexo 1.

TIEMPO DE OLFACION

A. MATERNO CON AJO



A. FRESCO

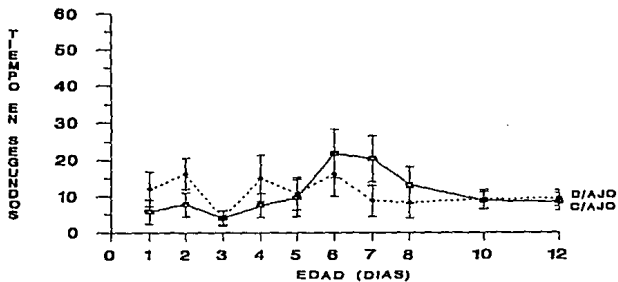


Fig. 17. Medias y error estándar del tiempo que las crías D/AJO y C/AJO dedicaron a explorar olfatoriamente las fuentes de olor materno con ajo y fresco, en la prueba de discriminación olfatoria. Como se puede observar en las gráficas, el ANOVA mostró diferencias significativas asociadas a la condición nutricional de las crías en el tiempo que dedicaron estas a olfatear el aserrín materno con ajo.

ELECCION

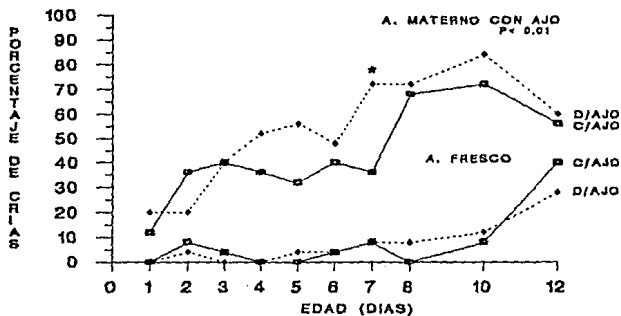


Fig. 18. Porcentajes del número de crías D/AJO y C/AJO que mostraron su elección desplazándose hacia alguna de las dos fuentes de olor. En este parámetro como se observa en la gráfica, los datos proporcionados por el ANOVA indicaron que la condición nutricional tuvo efectos significativos en la elección del aserrín materno con ajo.

- * $p < 0.05$
- ** $p < 0.01$

LATENCIA

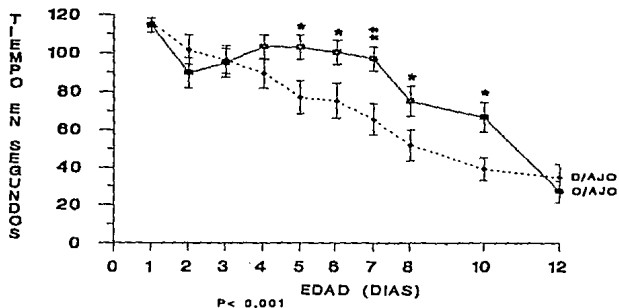


Fig. 19. Medias y error estándar de la latencia de elección o tiempo que requirieron las crías D/AJO y CAJO para desplazarse a cualquiera de las fuentes de olor materno con ajo y fresco. Como lo muestra la gráfica, la condición nutricional tuvo efectos significativos en este parámetro dado que las crías D/AJO se desplazaron con mayor rapidez hacia alguna de las fuentes de olor.

- p < 0.05
- ** p < 0.01

Preferencia.-

En general las crías de ambos grupos mostraron preferencia por el olor materno con ajo, que por el fresco. Esto se observó desde el día 1 de edad, en donde más del 80% de las crías se desplazaron y olfatearon el aserrín materno con ajo, mientras que menos del 16% de las crías mostraron preferencia al olor fresco en esta misma edad (Fig. 20).

En lo que se refiere a la preferencia del aserrín materno con ajo y al fresco, se observaron tendencias similares de las crías C/AJO y D/AJO.

El análisis de varianza indicó que la desnutrición, la edad y la interacción de estos factores, no tuvieron efectos significativos en lo que se refiere a la preferencia hacia alguna fuente de olor, que mostraron las crías en la prueba de discriminación olfatoria (Anexo 1).

PREFERENCIA

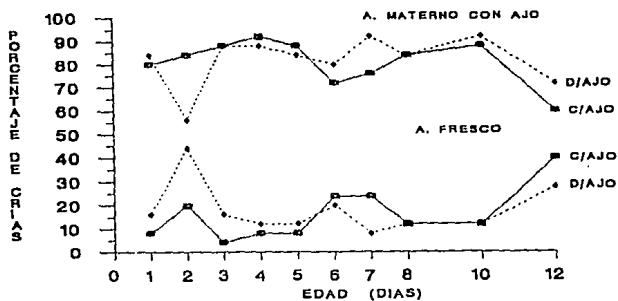


Fig. 20. Porcentaje de crías D/AJO y C/AJO que mostraron su preferencia hacia alguna de las dos fuentes de olor. El ANOVA mostró que la desnutrición no tuvo efectos significativos en la preferencia que mostraron las crías. Como se puede observar en las gráficas mayor número de crías de ambos grupos prefirieron el olor materno con ajo.

A. Materno con Ajo Vs A. Materno

Tiempo de Olfacción.-

A partir del día 2 de edad se observó que las crías de ambos grupos dedicaron periodos más prolongados a explorar olfativamente el aserrín materno, en comparación al aserrín materno con ajo (Fig. 21) y las crías de ambos grupos mostraron tendencias similares en la exploración olfatoria de las fuentes de olor.

El análisis de varianza indicó que la condición nutricional y la interacción de los factores no tuvieron efectos significativos en este parámetro, pero la edad si fue un factor determinante ($p < 0.001$).

Elección.-

Como se puede observar en la figura 22, la tendencia general de las crías de ambos grupos fue la elección del aserrín materno, lo cual se manifestó claramente a partir del día 4 de edad, en donde el mayor número de las crías se desplazaron hacia esta fuente de olor.

A su vez, se encontró que a partir del día 1 de edad de forma significativa ($p < 0.03$), un mayor número de crías D/AJO se desplazaron hacia el aserrín materno con ajo en comparación con las crías C/AJO. Para el día 7 de edad el 24% de las crías D/AJO se desplazaron hacia esta fuente de olor, mientras que tan sólo el 16% de las crías C/AJO mostraron esta elección. En lo que se refiere a la elección del aserrín materno no se observó diferencia entre ambos grupos.

Como se muestra en el Anexo 1, también el factor edad tuvo efectos significativos en la elección mostrada por las crías hacia alguna de las fuentes de olor.

TIEMPO DE OLFACION

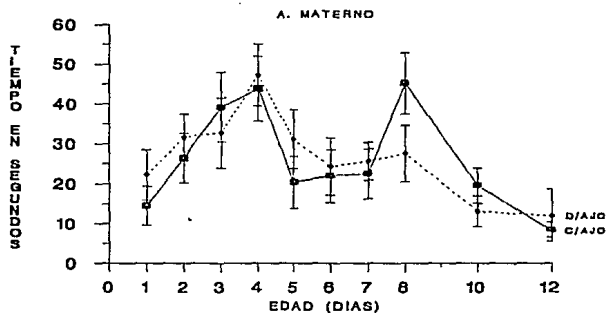
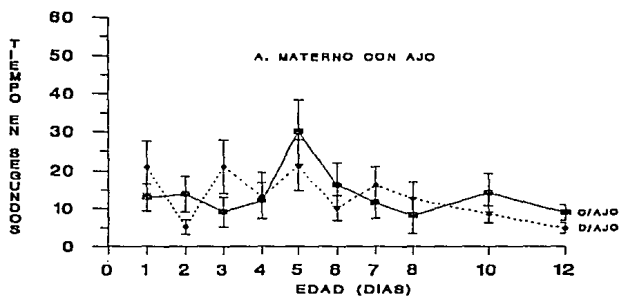


Fig. 21. Medias y error estándar del tiempo que las crías D/AJO y C/AJO dedicaron a explorar olfatoriamente las fuentes de olor materno con ajo y materno, en la prueba de discriminación olfatoria. Como se puede observar en las gráficas, el ANOVA no mostró diferencias significativas entre estos grupos.

ELECCION

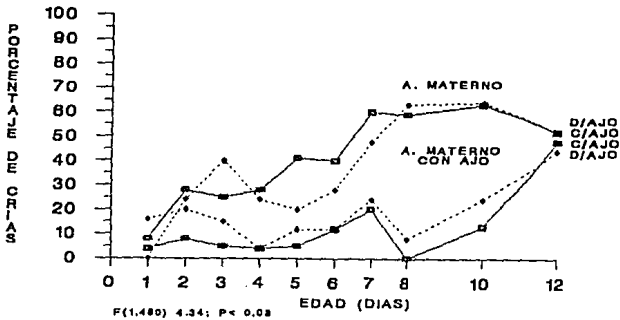


Fig. 22. Porcentajes del número de crías D/AJO y C/AJO que mostraron su elección desplazándose hacia alguna de las dos fuentes de olor. En este parámetro como se observa en la gráfica, los datos proporcionados por el ANOVA indicaron que la condición nutricional tuvo efectos significativos en la elección del aserrín materno.

Latencia.-

Al igual que en los experimentos anteriores, se observó que la latencia de elección disminuye de forma significativa con la edad ($p < 0.001$) a medida que las crías son capaces de desplazarse hacia cualquiera de las fuentes de olor (Fig. 23). A diferencia de los experimentos anteriores en que se observó muy definido el decremento de latencia de los grupos desnutridos en este ensayo fue poco evidente esta diferencia. Los resultados obtenidos por el ANOVA se muestran en el Anexo 1.

Preferencia.-

Mayor número de crías de ambos grupos prefirieron el aserrín materno, lo cual fue evidente a partir del día 2 de edad.

La respuesta de ambos grupos C/AJO y D/AJO al aserrín materno con ajo fue similar en todas las edades.

El análisis de varianza mostró que la condición nutricional y la interacción de los factores no tuvieron efectos estadísticamente significativos (Anexo 1) en la preferencia mostrada por las crías hacia alguna de las fuentes de olor.

LATENCIA

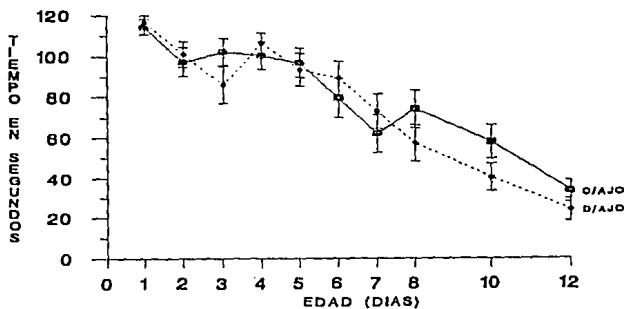


Fig. 23. Medias y error estándar de la latencia de elección o tiempo que requirieron las crías D/AJO y C/AJO para desplazarse a cualquiera de las fuentes de olor materno con ajo y materno. Como lo muestra la gráfica, la condición nutricional no tuvo efectos significativos en este parámetro.

PREFERENCIA

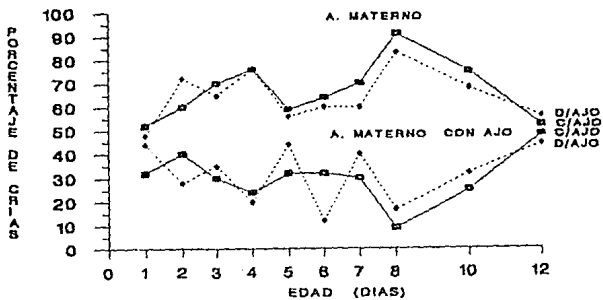


Fig. 24. Porcentaje de crías D/AJO y C/AJO que mostraron su preferencia hacia alguna de las dos fuentes de olor. El ANOVA mostró que la desnutrición no tuvo efectos significativos en la preferencia que mostraron las crías. Como se puede observar en las gráficas mayor número de crías de ambos grupos prefirieron el olor materno.

CONCLUSIONES

1. Los grupos D/AJO y C/AJO mostraron una preferencia por olfatear el aserrín materno con ajo en contraste con el aserrín fresco. La proporción de tiempo de olfacción en esos grupos fue ligeramente mayor que en los experimentos 1 y 2.
2. Las diferencias entre grupos, en los diferentes parámetros de elección, latencia y olfacción mostraron las mismas tendencias que en los experimentos anteriores. Siendo significativas las diferencias entre ambos grupos nutricionales en los parámetros de elección y latencia.
3. Estos datos confirman que las crías de rata desnutridas y controles pueden adquirir una preferencia olfatoria cuando se asocia un olor a los cuidados maternos y el nido.
4. Al probar a las crías en una situación de discriminación entre aserrín materno con ajo y aserrín materno, ambos grupos mostraron mayor preferencia por el aserrín materno, aunque previamente habían mostrado preferencia por el ajo cuando este se probó contra el aserrín fresco.
5. En comparación con los otros experimentos, en este ensayo el tiempo dedicado a explorar fue mayor. También se observó que las diferencias en la latencia entre desnutridas y controles se amortiguaron, probablemente porque la situación experimental confundió a las crías y no mostraron una elección tan rápida como en los otros experimentos.
6. Las crías D/AJO mostraron más consistencia a elegir el aserrín con ajo que las C/AJO. En los otros experimentos se observó que las crías desnutridas eran más consistentes para mostrar la elección al aserrín materno. En este último experimento, aunque no fue predominante si mostraron mayor consistencia por elegir el olor correspondiente al nido y a la hembra lactante.
7. La exploración y preferencia por el aserrín con ajo, fue mayor que la observada para el aserrín fresco en otros ensayos. Aunque el olor a ajo adquirió un valor significativo para las

crías, fue más poderosa la atracción ejercida por los olores naturales emitidos por la hembra.

DISCUSION

Los datos obtenidos con los 3 experimentos realizados sugieren consistentemente que la desnutrición prenatal y/o postnatal no alteran la capacidad de la cría para adquirir una preferencia olfatoria temprana, ni para manifestarla durante una prueba de discriminación olfatoria de dos opciones. Ya que, como se observó en los tres experimentos, ambos grupos olfatearon, eligieron y prefirieron el aserrín que contenía la fuente de olor experimentada en el nido.

De acuerdo al peso corporal de las crías sometidas a uno o ambos paradigmas de desnutrición, las estrategias empleadas para desnutrir a las crías pre- y postnatalmente, fueron efectivas. Con ambas estrategias se observaron deficiencias en el peso corporal de las crías desnutridas, que fueron significativas estadísticamente. A su vez, el decremento observado en el peso corporal es similar al reportado en otros estudios que han empleado estas mismas estrategias (Cragg, 1972; Barnes y Altman, 1973; Fuller y Wiggins, 1984), así como con otras estrategias para producir desnutrición en las crías, como es el empleo de dietas hipoproteínicas, reducción en la cantidad diaria de alimento y camadas con más de 12 crías (Bass y col., 1970; Griffin y col., 1977; Morgane y col. 1978; Patel, 1983).

El aditamento empleado para evaluar la respuesta de discriminación y preferencia olfatoria, se ha empleado por otros grupos, aunque con ligeras variantes (Coppersmith y Leon, 1984; Sullivan y col. 1986; Wilson y Leon, 1988) y ha mostrado ser una herramienta adecuada y versátil para evaluar el reconocimiento del olor asociado a la hembra lactante y el nido. A diferencia de otras pruebas empleadas con fines similares, como el "homing" (Altman y col. 1971) que requiere de un esfuerzo motor importante para mostrar una respuesta, con la prueba de dos opciones se requiere de una respuesta motora mínima, lo cual permite adjudicarle mayor peso a la respuesta olfatoria de las crías. Para los objetivos de este estudio mostró ser una prueba adecuada que nos permitió determinar el desarrollo de una respuesta olfatoria.

En los tres experimentos realizados se observó que desde el día 3 de edad las crías de rata mostraban ya una preferencia por olfatear el aserrín que emanaba el olor experimentado en el nido y para el día 5 la respuesta de desplazarse hacia él era consistente para todos los grupos estudiados. Nuestros datos coinciden con algunos reportes de la literatura que también han observado respuestas olfatorias selectivas en los primeros días posteriores al nacimiento. Entre ellos Salas y col. (1969) que registrando la actividad eléctrica espontánea del bulbo olfatorio observaron una respuesta selectiva al olor materno en crías a partir del día 3 de edad. Con observaciones conductuales Duveau y Godinot (1988) determinaron que a los 3 días las crías muestran 60% de respuestas positivas a la fuente de olor materna y a los 5 días alcanzan un 90% de acertividad. También J. Rosenblatt (1983) observó una respuesta olfatoria para reconocimiento materno a partir del día 3 de edad. Por otro lado, existen otros reportes que han señalado que el periodo crítico para establecer esta asociación se prolonga hasta el día 8 postnatal (Leon, 1992) e inclusive es factible generar asociaciones similares con estímulos que simulen el lamido materno hasta el día 16 de edad (Leon y Moltz, 1971 y 1972; Sullivan y col., 1986, 1990).

En estos experimentos, también fue evidente la consistencia de las crías desnutridas por olfatear y desplazarse hacia la fuente de olor correspondiente a la hembra y el nido. Esta consistencia se observó principalmente en los parámetros de elección y latencia, en los que se vio que las crías desnutridas mostraban mayor proporción de respuestas positivas hacia el aserrín materno y su velocidad de respuesta fue menor; estas observaciones se confirmaron con el ANOVA que indicó efectos significativos ejercidos por la desnutrición sobre estos parámetros y en los tres experimentos. Estas diferencias con los grupos control fueron más evidentes alrededor del día 5 de edad, momento en que en el peso corporal se empezaron a manifestar los efectos del procedimiento de desnutrición postnatal. En todos los grupos se observó un decremento gradual en la latencia de elección, que se asoció a la edad de las crías y específicamente a la maduración y el desarrollo de las habilidades motoras, de manera que de un día a otro las crías se desplazaban a cualquiera de las fuentes de olor con mayor

facilidad y rapidez. Es interesante recalcar que las ratas DES del primer experimento, las D-D del segundo experimento y las D/AJO mostraron menores latencias globales y los tres grupos estaban expuestos a una restricción de alimentos postnatal. Por otro lado, los grupos que tenían libre acceso a la leche materna durante la lactancia, esto es CON, D-R y C/AJO mostraron otra tendencia de respuesta pero similar entre sí. Este hallazgo nos sugiere que la privación de alimento pudo actuar como un factor motivante en los grupos desnutridos postnatalmente para que se aproximaran con mayor vehemencia a la fuente de olor materna.

En diversos paradigmas de aprendizaje se ha observado que la nutrición deficiente genera en las ratas una motivación intensa por adquirir alimento. De tal manera que en tareas de condicionamiento operante en que la consecuencia es un reforzador primario (alimento), las ratas desnutridas muestran patrones más eficientes de respuesta (Halas y col., 1980; Levitsky, 1975). Se han observado resultados similares en el rendimiento de ratas desnutridas cuando se han probado en laberintos, en los que la meta contiene un reforzador alimenticio (Jordan y col. 1980). A raíz de estas observaciones se han tratado de implementar otras pruebas conductuales, que reflejen la capacidad de aprendizaje en ratas desnutridas y que ofrezcan otras consecuencias. Con el modelo de aprendizaje olfatorio empleado en este estudio, se buscó precisamente una alternativa ya que la elección de una de las dos opciones no ofrecía directamente una consecuencia apetitiva. Sin embargo, las respuestas más rápidas y acertadas de las crías desnutridas hacia el aserrín materno sugieren que la elección de ésta fuente, implicaría para las crías privadas de alimento, una alternativa de aproximación al nido, a la hembra lactante y por lo tanto, la posibilidad de recibir alimentación. Así, como se ha observado en otros paradigmas de aprendizaje, el hambre de la rata desnutrida puede ser un factor motivante, que determinó la mejor eficiencia de las crías desnutridas para identificar y desplazarse hacia el aserrín materno.

Otros hallazgos en trabajos previos, ofrecen apoyo a esta suposición ya que se ha enfatizado que las crías desnutridas se dispersan poco del nido, manteniéndose juntas y que por lo tanto salen poco a su entorno a explorar (Franková, 1973; Massaro y col. 1977; Tonkiss

y Smart, 1983). La falta de interacción con el medio externo se ha adjudicado a debilidad muscular y retardo en el desarrollo de patrones motores que posibiliten su desplazamiento fuera del nido; sin embargo, también se ha observado que la persistencia por estar cerca del nido puede tener la finalidad de tener mayor oportunidad de succionar a la madre, ya que se observa que estas crías son más demandantes de cuidados maternos (Massaro y col. 1977). La consecuencia del aislamiento que la cría misma se impone durante la lactancia provoca una reducción en su repertorio conductual, a su vez que reduce sus oportunidades de aprendizaje (Levitsky, 1975). Así mismo, estas crías de vuelven temerosas, tímidas, también son más irritables y agresivas (Tonkiss y Smart, 1983; Watson y col. 1976; Wiener y col, 1983) y posteriormente evitan contactos sociales (Franková, 1973).

La falta de motivación por explorar fuera del nido e insistencia por permanecer en él pudo reflejarse en los ensayos de prueba, ya que como se ha mencionado, las crías desnutridas olfatearon menos, pero se desplazaron con mayor actividad y menor latencia a la fuente de olor materno.

Por otra parte, la desnutrición no alteró la capacidad de las crías para adquirir una preferencia olfatoria, ni para manifestarla durante la prueba de dos opciones. Considerando la propuesta de que este tipo de asociaciones pueden corresponder a un mecanismo de impronta olfatorio (Salas y col., 1970; Woo y Leon, 1987), podemos suponer que debe tratarse de un proceso poco lábil y estereotipado que garantice la adquisición de la respuesta y la supervivencia de las crías. De ser así, es entendible que la desnutrición no afectara su expresión. Recientemente, con marcador 2-desoxiglucosa (2-DG) se ha podido determinar que esta asociación temprana se realiza a nivel del bulbo olfatorio. Específicamente en los glomérulos formados por la unión de los receptores, las células mitrales, células en penacho y las células granulares (Coppersmith y Leon, 1984; Sullivan y col. 1990; Woo y Leon, 1987). En estos trabajos se ha visto que zonas localizadas del bulbo olfatorio se marcan cuando se expone a las crías al olor asociado con los cuidados maternos y que zonas distintas se marcan ante estímulos olfatorios extraños. Quedaría por dilucidar como se realiza esta interacción

neuronal en las crías desnutridas en las que se sabe que la migración de células granulares se retrasa importantemente. Es factible que con poca cantidad de tejido celular en el bulbo olfatorio, organizado precozmente pueda establecerse esta asociación. Se sabe que el sistema olfatorio es altamente resistente y plástico a lesiones y en ratas con sólo un 10% de tejido del bulbo olfatorio se pueden obtener respuestas de aprendizaje y de discriminación olfatoria (Hudson, 1993). A su vez, lesiones de la corteza olfatoria no alteran importantemente la respuesta de reconocimiento, y solo lesiones totales del bulbo olfatorio abolen la respuesta y las crías mueren (McClelland y Cowley, 1972).

También se ha postulado que proyecciones noradrenérgicas provenientes del locus ceruleus son relevantes para la activación de estos complejos glomerulares y por lo tanto para que se de la asociación olfatoria. De manera que si se bloquean los receptores β - noradrenérgicos en el bulbo olfatorio, no se establece dicha asociación (Sullivan y col., 1989). Así mismo Nakamura y col. (1987) han registrado un aumento de la actividad de neuronas del locus ceruleus ante la estimulación táctil en crías de rata, lo cual ha sugerido que esta estructura pudiera mediar el paso de estímulos experimentados en el nido.

Salas y col. (1970) propusieron que los olores asociados a la madre lactante que son estímulos típicos de la especie pudieran integrarse a nivel subcortical, en las estructuras límbicas de desarrollo ontogenético temprano, entre ellas el hipocampo (Salas y col., 1970), lo cual permitiría que se lleve a cabo este proceso de aprendizaje temprano. Por lo contrario, las asociaciones posteriores hacia otras fuentes de olor pudieran integrarse a nivel neocortical ya que requieren de respuestas asociativas más complejas. Se ha implicado en esta respuesta también al haz olfatorio lateral que forma un relevo hacia el núcleo mediodorsal del tálamo ya que lesiones en estas estructuras imposibilitan a las crías de rata a reconocer el olor materno (Slotnick y Risser, 1990).

Otra estructura que puede intervenir importantemente, en la asociación de experiencias olfatorias, es la amígdala. Dos núcleos amigdalinos están directamente relacionados con el procesamiento de información olfatoria; uno es el núcleo medial que recibe aferencias directas

de la vía olfatoria, del bulbo accesorio y de la corteza piriforme (Price, 1987; Carpenter, 1978; Lumia y col., 1987). Se ha propuesto que el núcleo medial procesa e integra la información olfatoria y le otorga un sentido afectivo. Asimismo por su interacción con los núcleos preóptico y ventromedial del hipotálamo, participa en la regulación de la conducta sexual (Chateau y Aron, 1988; Kostarczyc, 1986; MacLusky, 1985) y apetitiva (Fleming y col., 1983).

Por otro lado, el núcleo basolateral de la amígdala como parte de un circuito con el núcleo dorsomedial del tálamo y la corteza orbito frontal, participa en procesos de aprendizaje y memoria (Cador y col., 1989) y en relación a estímulos olfatorios y gustativos (Bermudez-Rattoni y col., 1986; Sarter y Markowitsch, 1984). Este núcleo basolateral, al igual que el hipocampo sufren alteraciones por la desnutrición (Díaz-Cintra y col. 1990; Díaz-Cintra y col. 1991; Escobar y Salas, 1993) y las alteraciones que sufren pudieran ser substrato anatómico de deficiencias para el aprendizaje.

El empleo de un olor ajeno al medio natural de la cría para formar una asociación materno-cría resultó muy interesante. Por un lado confirmó que efectivamente se pueden establecer asociaciones con olores distintos del emanado por la hembra lactante y que las crías desnutridas tienen la misma capacidad que las controles para establecerlas. Por otro lado mostró que esta preferencia puede ser aparente, ya que al someter a las crías a una elección con el olor natural materno, este último puede predominar jerárquicamente en las preferencias de la cría. En nuestro diseño este acontecimiento tiene una explicación lógica, ya que aunque se agregó un olor a la hembra y al nido, no se eliminó la emanación de los olores naturales. De tal manera, la cría era sometida a la experiencia del olor a ajo sumado al olor natural de la hembra. Otros grupos que han modificado el olor asociado a la hembra con sustancias artificiales han implementado además estrategias para evitar la secreción natural de estos olores. Así, se ha administrado a las hembras una dieta con sacarosa que evita la formación de los cecotrofos que confieren olor a los bolos fecales (Leon, 1975; Sullivan y col., 1990). En estos estudios las crías de rata se sometían entonces exclusivamente al olor artificial agregado a la hembra y al nido; y al evaluar este aprendizaje las crías preferían este

último sobre el olor natural materno. En otro trabajo (Duveau y Godinot, 1988) en donde, al igual que en el experimento 3, se agregó un olor distinto asociado al olor natural, se encontraron inicialmente preferencias por el olor agregado, pero a partir del día 6 la preferencia cambió hacia los olores naturales. Estos autores afirman que los olores agregados pueden fungir inicialmente como incentivos, pero pierden su fuerza posteriormente. Los datos obtenidos en el experimento 3 muestran una preferencia consistente por el olor natural sobre el agregado artificialmente, aunque para el día 12 esta diferencia se minimiza. Podemos suponer que también el establecimiento de asociaciones con olores ajenos pudiera requerir más días de exposición. En los trabajos de León y Sullivan descritos anteriormente, la determinación de preferencias olfatorias utilizando olores artificiales, se ha realizado hasta el día 18 postnatal.

Se puede suponer también que la intensidad de las 2 fuentes de olor fue desigual. Esta medición no se realizó ya que requiere de un equipo especial, sin embargo la respuesta selectiva al olor materno puede obedecer a que esta fuente de olor emanaba un estímulo más intenso que opacaba al otro olor.

En este experimento 3 también resultó interesante en el parámetro de elección que las crías desnutridas mostraron mayor proporción de respuestas correctas por el aserrín con ajo que las controles. Considerando que en las otras pruebas estos grupos desnutridos habían mostrado mayor acertividad para dirigirse al aserrín materno, podemos suponer que en este ensayo estaban expresando nuevamente esa eficacia de reconocimiento velada por el olor materno.

Con estos resultados podemos concluir que las crías de rata desnutridas tienen la capacidad de aprender y reconocer estímulos olfatorios asociados a los cuidados maternos y el nido. No existen otras referencias en la literatura que hayan explorado aspectos de la capacidad olfatoria en ratas desnutridas, lo cual deja abierta la posibilidad de explorar otros procesos olfatorios con distintos paradigmas de aprendizaje tanto en ratas lactantes, como en

capacidad funcional de un sistema que morfológicamente ha mostrado ser deficiente en la rata desnutrida.

ANEXO 1

Tabla de resultados obtenidos con el análisis de varianza para muestras completamente aleatorizadas de dos factores.

EXPERIMENTO 1

PARAMETRO	NUTRICION	EDAD	INTERACCION
	G.L. (1,980)	G.L. (9,980)	G.L. (9,980)
TIEMPO DE OLFACIÓ MATERNO FRESCO	0.04 N.S.	0.001 0.01	0.005 N.S.
ELECCION MATERNO FRESCO	0.001 N.S.	0.001 0.001	0.04 N.S.
LATENCIA	0.001	0.001	N.S.
PREFERENCIA MATERNO FRESCO	0.05 N.S.	0.001 0.04	N.S. N.S.

EXPERIMENTO 2

	G.L. (1,580)	G.L. (9,580)	G.L. (9,580)
TIEMPO DE OLFACIÓ MATERNO FRESCO	N.S. N.S.	0.001 0.01	N.S. 0.02
ELECCION MATERNO FRESCO	0.006 N.S.	0.001 0.001	N.S. N.S.
LATENCIA	0.003	0.001	N.S.
PREFERENCIA MATERNO FRESCO	N.S. N.S.	N.S. 0.01	N.S. N.S.

EXPERIMENTO 3

A. MATERNO CON AJO VS. A. FRESCO

PARAMETRO	NUTRICION	EDAD	INTERACCION
	G.L. (1,480)	G.L. (9,480)	G.L. (9,480)
TIEMPO DE OLFACION AJO FRESCO	0.01 N.S.	0.001 N.S.	N.S. N.S.
ELECCION AJO FRESCO	0.01 N.S.	0.001 0.001	N.S. N.S.
LATENCIA	0.001	0.001	0.004
PREFERENCIA AJO FRESCO	N.S. N.S.	N.S. 0.001	N.S. N.S.

A. MATERNO CON AJO VS. A. MATERNO

	G.L. (1,480)	G.L. (9,480)	G.L. (9,480)
TIEMPO DE OLFACION AJO MATERNO	N.S. N.S.	0.02 0.001	N.S. N.S.
ELECCION AJO MATERNO	0.03 N.S.	0.001 0.001	N.S. N.S.
LATENCIA	N.S.	0.001	N.S.
PREFERENCIA AJO MATERNO	N.S. N.S.	N.S. 0.01	N.S. N.S.

REFERENCIAS

- Ahmed, M.G.E., Bedi, K.S., Warren, M.A. y Kamel, M.N. (1987): Effect of a lengthy period of undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the synapse: Granull cell neuron ratio in the rat dentate gyrus. *Journal of Comparative Neurology* 263: 146-158.
- Almli, C.R., Henault, M.A., Velozo, C.A. y Morgane, P.J. (1985): Ontogeny of electrical activity of main olfactory bulb in freely-moving normal and malnourished rats. *Developmental Brain Research* 18: 1-11.
- Altman, J., Sudarshan, K., Das, D., McCormick, N. y Barnes, D. (1971): The influence of nutrition on neural and behavioral development: III. Development of some motor, particularly locomotor patterns during infancy. *Developmental Psychobiology*, 4: 97 - 114.
- Barnes, D. y Altman, J. (1973): Effects of different schedules of early undernutrition on the preweaning growth of the rat cerebellum. *Experimental Neurology* 38: 406-419.
- Bass, N.H., Netsky, M.G. y Young, E. (1970): Effect of neonatal malnutrition on developing cerebrum: I. Microchemical and histologic study of cellular differentiation in the rat. *Arch. of Neurology* 23: 289-302.
- Beatty, W. y Costello, K. (1983): Olfactory bulbectomy and play fighting in juvenile rats. *Physiology and Behavior* 30: 525-528.
- Bedi, K.S. (1992): Spatial learning ability of rats undernourished during early postnatal life. *Physiology and Behavior* 51: 1001-1007.
- Bermúdez-Rattoni, F., Grijalva, C.V., Kiefer, S.W. y García, J. (1986): Flavor-illness aversion: the role of the amygdala in the acquisition of taste-potentiated odor aversion. *Physiology and Behavior* 38: 503-508.
- Biel, W.C. (1939): The effect of early inanition on a developmental schedule in the albino rats. *Journal of Comparative Psychology* 28: 1 - 15.
- Brock, J. y Prasad, C. (1992): Alteration in dendritic spine density in the rat brain associated with protein malnutrition. *Developmental Brain Research* 66: 266-269.

- Cador, M., Robbins, T.W., y Everitt, B.J. (1989): Involvement of the amygdala in stimulus-reward associations: interaction with the ventral striatum. *Neuroscience* 30: 77-86.
- Carpenter, M.C. (1978): *Neuroanatomía Humana*, Ed. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.
- Castro, C.A., Rudy, J.W. (1987): Early-life malnutrition selectively retards the development of distal-but not proximal-cue navigation. *Developmental Psychobiology* 20: 521-537.
- Chateau, D. y Aron, Cl. (1988): Heterotypic sexual behavior in male rats after lesion in different amygdaloid nuclei. *Hormones Behavior* 22: 379-388.
- Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Galván, A., y Morgane, P.J. (1988): Circadian rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos México*. 36: 3-17.
- Coppersmith, R. y Leon, M. (1984): Enhanced neural response to familiar olfactory cues. *Science* 225: 849-851.
- Cordero, M.E., Trejo, M., García, E., Barros, T., Rojas, A.M., y Colombo, M. (1986): Dendritic development in the neocortex of adult rats following a maintained prenatal and or early postnatal life undernutrition. *Early Human Development* 14: 245-258.
- Cragg, B.G. (1972): The development of cortical synapsis during starvation in the rat. *Brain* 95: 143-150.
- Cravioto, J. y DeLicardie, E. (1975): Neurointegrative development and intelligence in children rehabilitated from severe malnutrition. En: *Brain Function and Malnutrition*, Ed. Wiley & Sons, New York. pp. 53-72.
- Debassio, W.A. y Kemper, T.L. (1985): The effect of protein deprivation on neural migration in rats. *Developmental Brain Research* 20: 191-196.
- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Ortega, A., Kemper, T., y Morgane, P.J. (1990): Effects of protein deprivation on pyramidal cells of the visual cortex in rats of three age groups. *Journal of Comparative Neurology* 292: 117-126.
- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Galván, A., Aguilar, A., Kemper, T. y Morgane, P.J. (1991): Effects of prenatal protein deprivation on postnatal development of granull cells in the fascia dentata. *Journal of Comparative Neurology* 310: 356-364.

Goodlett, C.R., Valentino, M.L., Morgane, P.J. y Resnick, O. (1986): Spatial cue utilization in chronically malnourished rats: task-specific learning deficits. *Developmental Psychobiology* 19: 1-15.

Greene, L.S. (1977): Malnutrition, behavior and social organization. (Eds.) *Academic Press*, N.Y., U.S.A. pp. 1-288.

Griffin, W.S.T., Woodward, D.J., Chanda, R. (1977): Malnutrition and brain development: cerebellar weight, DNA, RNA, protein and histological correlations. *Journal of Neurochemistry* 28: 1269-1279.

Halas, E.S., Burger, P.A., y Sandstead, H.H. (1980): Food motivation of rehabilitated malnourished rats: Implications for learning studies. *Animal Learning and Behavior* 8: 152-158.

Hall, R., Leahy, J. y Robertson, W. (1979): The effect of protein malnutrition on the behavior of the rats during the suckling period. *Developmental Psychobiology* 12: 455- 466.

Haroutunian, V. y Campbell, B. (1979): Emergence of interoceptive and exteroceptive control of behavior in rats. *Science* 205: 927-929.

Hillman, D.E. y Chen, S. (1981): Vulnerability of cerebellar development in malnutrition -II. Intrinsic determination of total synaptic area on Purkinje cell spines. *Neuroscience* 6: 1263-1275.

Hudson, R. (1993): Behavioral neurobiology. Curso impartido en el Instituto de Investigaciones Biomédicas.

Jordan, T.C.; Cane, S.E. y Howells, K.F. (1981): Deficits in spatial memory performance induced by early undernutrition. *Developmental Psychobiology* 14: 317-325.

Kleitman, N. y Satinoff, E. (1982): Thermoregulatory behavior in rat pups from birth to weaning. *Physiology and Behavior* 29: 537-541.

Kostarczyk, E.M. (1986): The amygdala and male reproductive functions. I. Anatomical and endocrinal bases. *Neuroscience Biobehavioral Review* 10: 67-77.

Leon, M. y Moltz, H. (1971): Brief Communication. Maternal pheromone: Discrimination by pre-weaning albino rats. *Physiology and Behavior* 7: 265-267.

Leon, M. y Moltz, H. (1972): The development of the pheromonal bond in the albino rat. *Physiology and Behavior* 8: 683-686.

Dobbing, J. (1968): Vulnerable periods in developing brain. En: *Applied Neurochemistry*, (Ed.) F.A. Davis Company, Philadelphia. pp. 287-316.

Dobbing, J. (1972): Vulnerable periods of brain development, In: *Lipids, Malnutrition and the Developing Brain. CIBA Foundation Symposium, Amsterdam: Elsevier*. 9-29.

Dobbing, J. (1990): Vulnerable periods in developing brain. En: *Brain, Behavior, and Iron in the Infant Diet* (Ed.) John Dobbing, U.S.A.. Pp. 1-25.

Duveau, A. y Godinot, F. (1988): Influence of the odorization of the rearing environment on the development of odor-guided behavior in rat pups. *Physiology and Behavior*. 42:265-270.

Escobar, C. (1987): Efectos de la desnutrición y de la estimulación sensorial temprana sobre el desarrollo y la conducta de la rata. *Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas UCPYP, CCH*. pp. 64.

Escobar, C. y Salas, M. (1993): Neonatal undernutrition and amygdaloid complex development: an experimental study in the rat. *Experimental Neurology* 122: 311-318.

Ferrer, J.M., Cobo, M. y Mora, F. (1987): The basolateral limbic circuit and self-stimulation of the medial prefrontal cortex in the rat. *Physiology and Behavior* 40: 291-291.

Fleming, A.S., Miceli, M. y Moretto, D. (1983): Lesions of the medial preoptic area prevent the facilitation of maternal behavior produced by amygdala lesions. *Physiology and Behavior* 31: 503-510.

Franková, S. (1973): Effect of protein-calorie malnutrition on the development of social behavior in rats. *Developmental Psychobiology* 6: 33 - 43.

Fuller, G. y Wiggins, R. (1984): Differential growth recovery within the brains of postnatally undernourished rats. *Developmental Brain Research* 15: 280-282.

Galef, B. y Kaner, H. (1980): Establishment and maintenance of preference for natural and artificial olfactory stimuli in juvenile rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 94: 588-596.

García-Ruiz, M., Parra, L. y Díaz-Cintra, S. (1994): Los efectos de la desnutrición sobre los procesos de aprendizaje y memoria en modelos animales. *Revista Biomédica* 5 (en prensa).

Gómez, F. y Velasco, J., (1954): Estudios sobre el niño desnutrido. XVII manifestaciones psicológicas. *Boletín Médico del Hospital Infantil*. México, 2: 631-635.

- Leon, M. (1975): Dietary control of maternal pheromone in the lactating rat. *Physiology and Behavior* 14:311-319.
- Leon, M. (1992): Neuroethology of olfactory preference development. *Journal of Neurobiology* 23: 1557-1573.
- Levitsky, D. (1975): Malnutrition and animals model of cognitive development. En: G. Serban (Ed.), *Nutrition and Mental Functions*. Proceedings of Kittay Scientific Foundation. New York: Plenum Press: pp. 75-89.
- Lumia, A.R., Zebrowski, A.F. y McGinnis, M.Y. (1987): Olfactory bulb removal decreases androgen receptor binding in amygdala and hypothalamus and disrupts masculine sexual behavior. *Brain Research* 404: 121-126.
- Llamas, A., Avandaño, C. y Reinoso.Suárez, F. (1977): Amygdaloid projections to prefrontal and motor cortex. *Science* 195: 794-796.
- MacLusky, N.J., Phillip, A., Hulburt, C. y Naftolin, F. (1985): Estrogen formation in the developing rat brain: sex differences in aromatase activity during early post-natal life. *Psychoneuroendocrinology* 10: 355-361.
- Massaro, T., Levitsky, D. y Barnes, R. (1977): Protein malnutrition induced during gestation: It's effect on pup development and maternal behavior. *Developmental Psychobiology* 10: 339-345.
- McClelland, R.J. y Cowley, J.J. (1972): The effects of lesion of the olfactory bulbs on the growth and behavior of mice. *Physiology and Behavior* 9: 319-324.
- Monckeberg, F. (1968): Effect of early marasmic malnutrition on subsequent physical and psychological development. En: *Malnutrition, Learning and Behavior*. (Eds.) Scrimshaw, N.S. y Gordon, J.E., MIT Press, Boston.
- Morgane, P., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, E., Hawrylewicz, E. y Resnick, O. (1978): The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neuroscience Biobehavioral Review* 2: 137-230.
- Morgane, P.J., Austin, K.B., Siok, C.S., LaFrance, R.J., Bronzino, J.D. (1985): Power espectral analysis of hippocampal and cortical EEG activity following severe prenatal protein malnutrition in the rat. *Developmental Brain Research* 22: 211-218.

Morgane, P.J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T. y Gailer, J. (1993): Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 17: 91-128.

Mourek, J., Himwick, W.A. (1967): The role of nutrition in the development of evoked cortical responses in rat. *Brain Research* 9: 241-251.

Pager, J. (1983): Unit responses changing with behavioral outcome in olfactory bulb of unrestrained rats. *Brain Research* 289: 87-98.

Patel, A., (1983): Undernutrition and brain development. *Trends in Neuroscience* 6: 151-154.

Price, J.L. (1987): Amygdaloid complex. En: Adelman, G. (Ed.) *Encyclopedia of Neuroscience*, Vol. I, Birkhäuser Boston, Inc., U.S.A.. Pp. 40-42.

Nakamura, S., Kimura, F. y Sakaguchi, T. (1987): Postnatal development of electrical activity in locus coeruleus. *Journal of Neurophysiology* 58: 510-524.

Rajanna, B., Mascarenhas, C., Desiraju, T. (1987): Deviations in brain development due to caloric undernutrition and scope of their prevention by rehabilitation: alterations in the power spectra of the EEG of areas of the neocortex and limbic system. *Brain Research* 465: 97-113.

Romero, P.R., Beltramino, C.A., y Carrer, H.F. (1990): Participation of the olfactory system in the control of approach behavior of the female rat to the male. *Physiology and Behavior* 47(4): 85-90.

Rosenblatt, J. (1983): Olfaction mediates developmental transition in the altricial newborn of selected species of mammals. *Developmental Psychobiology* 16: 347-375.

Salas, M., Guzmán-Flores, C. y Schapiro, S. (1969): An ontogeny study of olfactory bulb electrical activity in the rat. *Physiology and Behavior* 4: 699-703.

Salas, M., Schapiro, S. y Guzmán-Flores, C. (1970): Development of olfactory bulb discrimination between maternal and food odors. *Physiology and Behavior* 9: 1251-1264.

Salas, M. y Cintra, L. (1973): Behavioral effects of undernutrition on the neonatal rat. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicas México*. 28: 23-27

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

- Salas, M., Torrero, C. y Pulido, S. (1984): Long-term alterations in the maternal behavior of neonatally undernourished rats. *Physiology and Behavior* 33: 273-278.
- Salas, M., Pulido, S., Torrero, C. y Escobar, C. (1991): Neonatal undernutrition and selfgrooming development in the rat. Long-term effects. *Physiology and Behavior* 50: 567-572.
- Sarter, M. y Markowitsch, J.H. (1984): Collateral innervation of the medial and lateral prefrontal cortex by amygdaloid, thalamic and brain-stem neurons. *Journal of Comparative Neurology* 224: 445-460.
- Schönheit, B. y Haensel, P. (1989): Neurohistological study of the dendrites of lamina V-pyramidal neurons of the rat following recovery from postnatal malnutrition. *J. Hirnforschung* 30: 385-397.
- Sharma, S.K., Nayar, U., Maheshwari M.C., y Singh, B. (1987): Effect of undernutrition on developing rat cerebellum: Some electrophysiological and neuromorphological correlates. *Journal of Neurology Science* 78: 261-272.
- Shurtleff, D. y Tobach, E. (1979): Neonatal rat pup's (Long-Evans DAB) behavioral response to thermal stimuli. *Bulletin Psychonom. Soc.* 13: 75-77.
- Singh, P.J. y Tobach, E. (1975): Olfactory bulbectomy and nursing behavior in rat pups (Wistar DAB). *Developmental Psychobiology* 8: 151-164.
- Slotnick, B.M. y Risser, J.M. (1990): Odor memory and odor learning in rats with lesion of the lateral olfactory tract and mediodorsal thalamic nucleus. *Brain Research* 529: 23-29.
- Sullivan, R.M., y Leon, M. (1986): Early olfactory learning induces an enhanced olfactory bulb response in young rats. *Developmental Brain Research* 27: 278-282.
- Sullivan, R.M., Hofer, M.A., y Brake, S.C. (1986): Olfactory-Guided orientation in neonatal rats is enhanced by conditioned change in behavioral state. *Developmental Psychobiology* 19: 615-623.
- Sullivan, R.M., Wilson, D.A., y Leon, M. (1989): Associative processes in early olfactory preference acquisition: Neural and behavioral consequences. *Psychobiology* 17: 29-33.
- Sullivan, R.M., Wilson, D.A., Wong, R., Correa, A. y Leon M. (1990): Modified behavioral and olfactory bulb responses to maternal odors in preweanling rats. *Developmental Brain Research* 53: 243-247.

- Sullivan, R.M. y Wilson, D.A. (1991): Neural correlates of conditioned odor avoidance in infant rats. *Behavioral Neuroscience* 105: 307-312.
- Teichner, M. y Blass, E. (1976): Suckling in newborn rats: Eliminated by nipple lavage, reinstated by pup saliva. *Science* 197: 422-424.
- Teichner, M. y Blass, E. (1977): First suckling response of the new born albino rat: The roles of olfaction and amniotic fluid. *Science* 198: 635-636.
- Tonkiss, J. y Smart, J. (1983): Interactive effects of genotype and early life undernutrition on the development of behavior in rats. *Developmental Psychobiology* 16: 287 -301.
- Tonkiss, J., Galler, J., Morgane, P., Bronzino, J., Austin-Lafrance, R. (1993): Prenatal protein malnutrition and postnatal brain function. En: Maternal Nutrition and Pregnancy Outcome. Annals of the New York Academy of Science Vol. 678 (Ed.) Staff, New York. Pp. 215-227.
- Watson, T., Smart, J. y Dobbing, J (1976): Undernutrition in early life: Lasting effects on activity and social behavior of male and female rats. *Developmental Psychobiology* 9: 529-538.
- West, C., Kemper, T. (1976): The effect of a low protein diet on the anatomical development of the rat brain. *Brain Research* 107: 221-237.
- Wiener, S., Fitzpatrick, K., Levin, R., Smotherman, W., Levine, S. (1977): Alterations in the maternal behavior of rats rearing malnourished offsprings. *Developmental Psychobiology* 10: 243-254.
- Wiener, S., Robinson, L. y Seymour, L. (1983): Influence of perinatal malnutrition on adult physiological and behavioral reactivity in rats. *Physiology and Behavior* 30: 41-50.
- Wilson, D.A. y Leon, M. (1988): Spatial patterns of olfactory bulb single-unit responses to learned olfactory cues in young rats. *Journal of Neurophysiology* 59: 1770-1782.
- Winick, M. y Rosso, P. (1975): Malnutrition and central nervous system development. En: Brain Function and Malnutrition. Ed. Wiley & Sons, New York. pp 41-52.
- Woo, C. y Leon, M. (1987): Sensitive period for neural and behavioral response development to learned odors. *Developmental Brain Research* 36: 309-313.