

03086



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**Colegio de Ciencias y Humanidades
Unidad Académica de los Ciclos Profesional y
de Posgrado
Centro de Neurobiología**

3
24

**"Conducta Maternal de Acarreo en
Ratas Neonatalmente Desnutridas o
Tratadas con Capsaicina."**

T E S I S

**Que para obtener el Grado de:
Doctor en Ciencias Fisiológicas
Presenta:**

Porfirio Carrillo Castilla

México, D. F.

1997

**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 esta 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.

CREDITOS

. La presente tesis fue realizada en el Laboratorio del Dr. Manuel Salas A., del Centro de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México y en el Laboratorio de Neurobiología del Desarrollo del Instituto de Neuroetología de la Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.

. La tesis fue dirigida por el Dr. Manuel Salas A. Los revisores fueron el Dr. Pablo Pacheco Cabrera, Inst. de Invest. Biomédicas con sede en la Unidad Periférica, Xalapa., el Dr. Francisco Pellicer Graham, Inst. Mexi. de Psiquiatría, Tlalpan, D.F., la Dr. Esther García Castells, Inst. de Invest. Biomédicas, UNAM., el Dr. Raúl Paredes Guerrero del Centro de Neurobiología de la UNAM., el Dr. Roberto Prado Alcalá, Centro de Neurobiología de la UNAM., y la Dra. Carolina Escobar Briones, Inst. de Fisiol. Celular de la UNAM.

La presente tesis de investigación fue apoyada por los programas citados a continuación:

*Programa de Apoyo a Académicos en Estudios de Posgrado
Universidad Veracruzana, 1994-1995.*

*Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
Becas de Maestría y Doctorado
Registros 84387 y 92264*

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Manuel Salas, a la Lic. Carmen Torrero y su grupo de investigación por su constante apoyo y por permitirme desarrollar mi maestría y doctorado en su laboratorio. Gracias por su paciencia y amistad.

Al actual Director del Instituto de Neurootología (INE) de la Univ. Veracruzana, Mtro. Ernesto Rodríguez Luna, por alentar y gestionar el desarrollo académico de los miembros del INE. Gracias por tu amistad y apoyo académico.

A la Dra. Rosa Angélica Lucio, Dr. Jorge Manzo, Dra. María Elena Hernández y a la Dra. Robyn Hudson, muchas gracias por todo su apoyo.

Al personal académico, administrativo y a todos los estudiantes del INE por brindarme su amistad y apoyo.

Al personal académico y administrativo del Centro de Inv. Fisiológicas de la Univ. Aut. de Tlaxcala por el apoyo que siempre he recibido.

A la Dra. Sofía Díaz por su constante e imprescindible apoyo durante mis estudios de maestría y doctorado.

A mis amigos - Carolina Escobar, Raúl Aguilar, Marisela Luna, Teresa Morales, Carlos Quintanar, Gerardo Arellín, Yolanda Cruz, Patricia Ordinolla, Enrique Portilla, Raquel Soñora, Carmelita Salas, Angelica Maciel, Guadalupe Manzo - y todos los demás- por su amistad y apoyo.

A los estudiantes del Lab. de Neurobiología del Desarrollo del INE-UV, Miguel, Luis, Ma. de Jesús, y Vere.

A mi madre, hermanas y sobrinos, por su amor y comprensión infinita.

DEDICATORIA

Los estudios de posgrado que con esta tesis concluyen son también el resultado de la paciencia, apoyo en todo momento y la confianza que me han otorgado quienes concibieron y construyeron el grupo de investigación al cual orgullosamente pertenezco. A ellos está dedicada, respetuosamente, esta tesis,

al Dr. Pablo Pacheco y la Dra. Margarita Martínez-Gómez.

A Lety, mi amorosa compañera de las mil batallas

A Enrique, Jorge, Beto y "Marcos"

INDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
I. INTRODUCCION	
1. Alteraciones permanentes en el sistema nervioso por la presencia de estímulos nocivos durante la fase crítica del desarrollo.	4
II. ANTECEDENTES	
2. Efectos neurales provocados en la rata por la desnutrición durante la lactancia.	8
3. Alteraciones conductuales como consecuencia de la desnutrición	14
3.1 Cambios en la expresión de la conducta maternal en hembras sometidas a diferentes tratamientos de desnutrición.	20
4. Neurotoxicidad de fibras sensoriales provocada por la administración neonatal de capsaicina.	25
5. Conducta Maternal.	33
5.1 Sensibilización	37
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	43
IV. HIPOTESIS	44
V. OBJETIVOS	45

VI. METODOLOGIA

Experimento 1.....	47
Experimento 2.....	48
Experimento 3.....	53

VII. RESULTADOS Y DISCUSION

<u>Experimento 1.</u> Conducta maternal inducida por sensibilización de hembras adultas desnutridas durante la lactancia por la separación de su madre (DxP)	59
--	----

<u>Experimento 2.</u> Conducta maternal inducida por sensibilización de hembras adultas desnutridas durante la lactancia al ser criadas por madres ligadas de los conductos galactóforos (DxL).	86
---	----

Análisis conductual comparativo entre hembras desnutridas por privación del cuidado materno (DxP) y hembras desnutridas al ser cuidadas por madres ligadas de los conductos galactóforos (DXL).	112
---	-----

Discusión.	131
--------------------	-----

<u>Experimento 3.</u> Expresión de la conducta maternal postparto en hembras adultas tratadas neonatalmente con capsaicina	146
--	-----

Discusión.	170
--------------------	-----

VIII. DISCUSION GENERAL	181
--	-----

IX. CONCLUSIONES - Particulares -

Experimento 1.....	193
Experimento 2.....	196
Experimento 3.....	201

Generales y perspectivas

Experimento 1. 204
Experimento 2. 205
Experimento 3. 208

X. ANEXOS.

ANEXO 1

Alteraciones conductuales provocadas por la administración de Capsaicina.
..... 211

ANEXO 2

Bases hormonales y neurales de la Conducta Maternal. 225

XII. REFERENCIAS 241

ANEXO 3 265

Carrillo, P., Manzo, J., Martínez-Gómez, M., Salas, M. y Pacheco, P. Neonatal capsaicin administration: effects on behavioral development of the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 48:447-452, 1994.

Carrillo, P., Camacho, M., Manzo, J., Martínez-Gómez, M., Salas, M. y Pacheco, P. Cutaneous wounds produced by capsaicin treatment of newborn rats are due to trophic disturbances. *Neurotoxicol. Teratol.*, 20:1-7, 1997.

RESUMEN

El balance inadecuado de nutrimentos, de hormonas neurotrópicas, iones, etc., así como la acción neurotóxica o mutagénica de diversas sustancias alrededor del nacimiento, son algunos de los factores que afectan la maduración cerebral y el desarrollo funcional de los individuos altriciales que cursan por etapas críticas de desarrollo postnatal temprano. En el presente estudio, analizamos los cambios a largo plazo provocados por dos diferentes procedimientos de desnutrición neonatal, así como por la acción neurotóxica perinatal de la capsaicina. Para ello describimos, respectivamente, la expresión de la conducta maternal provocada durante la sensibilización de hembras vírgenes adultas, y la expresión de la conducta maternal después del parto de hembras de la Cepa Wistar. Uno de los procedimientos de desnutrición (DxP - Experimento 1) se acompañó de la privación parcial del cuidado maternal de las crías, en el otro caso (DxL- Experimento 2) atenuamos esta privación maternal, desnutriendo crías que durante su lactancia fueron parcialmente cuidadas por una madre sustituta, ligada de los conductos galactóforos principales. Por su parte las crías hembras inyectadas neonatalmente (día 2 postparto) con capsaicina (50 mg/kg, s.c.), permanecieron bajo el cuidado normal de sus madres. Después del día del destete (día 21 postparto) todas las camadas fueron colocadas hasta el final de los experimentos en ambientes donde tenían acceso libre al agua y al alimento (Purina chow). A partir del día 90 de edad postnatal, la sensibilización consistió en la cohabitación continua de las hembras neonatalmente desnutridas (DxP o DxL) con crías de 2 y 3 días de edad, que fueron diariamente reemplazadas. Durante esta cohabitación (sensibilización) registramos diariamente, dos veces (0900 hr y 1900 hr), las conductas mostradas por las hembras, tanto hacia las crías como hacia el ambiente. Por su parte, en el experimento 3, las hembras (90 días de edad) sobrevivientes al tratamiento neonatal con capsaicina, fueron apareadas con machos adultos intactos. Después de detectar en ellas la gestación, fueron colocadas en cajas individuales hasta la ocurrencia del parto, después de lo cual fueron registradas, cada tercer día, en la conducta maternal que dirigieron hacia sus camadas. **Resultados:** las alteraciones provocadas por la desnutrición asociada o no a la privación del cuidado materno, indicaron que es fundamentalmente la desnutrición, el factor que más alteró la expresión de la conducta maternal inducida por sensibilización. Encontramos reducciones significativas en la aparición del acarreo de las crías, retardos en las latencias para iniciarlo, reducción en el número de crías acarreadas, y porcentajes importantes de hembras neonatalmente desnutridas (Exp. 1 y 2) que no mostraron conducta maternal de acarreo. Adicionalmente, reportamos alteraciones en la relación conductual que las hembras neonatalmente desnutridas establecieron con las crías: observamos, aumentos en el enterramiento de crías y disminución en el aseo y husmeo de las mismas. Por otro lado, las hembras neonatalmente desnutridas mostraron aumentos en las frecuencias de la conducta de roer y de autoaseo. Lo que hemos interpretado como un aumento en la motivación para atender estímulos externos, que disminuyeron su interés por las crías. Seguramente esto contribuyó a que la expresión de la conducta maternal de las hembras se observará errática. Es importante señalar que la distribución similar de los registros al comparar los grupos experimentales de desnutrición nos permite postular que las alteraciones aquí encontradas en la conducta maternal de acarreo, están reflejando principalmente los efectos producidos por la sola desnutrición. Por otro lado es muy claro que la sensibilización materna de hembra vírgenes adultas neonatalmente desnutridas opera de una manera muy diferente a lo reportado para hembras

adultas intactas. Por lo que corresponde al experimento 3, el registro de la conducta maternal postparto de hembras adultas neonatalmente tratadas con capsaicina reveló importantes hallazgos. En lo correspondiente a los parámetros maternos encontramos incrementos en las latencias para iniciar el acarreo de las crías, y alteraciones en la temporalidad y frecuencia para registrar la postura de echada sobre las crías. De manera muy clara registramos, durante la primera mitad de la lactancia, aumentos significativos en las latencias, disminución en las frecuencias y duración total de la postura corporal de echada sobre las crías. Para la segunda mitad de la lactancia estos parámetros se invirtieron, registrándose entonces, latencias menores para echarse, más frecuentemente y durante más tiempo. Estos importantes cambios en la conducta maternal, los discutimos en razón de las bien conocidas alteraciones en la termopercepción y termorregulación que se observan después del tratamiento neonatal con capsaicina. Se tiene amplia evidencia de la maduración del sistema de termorregulación de las crías de rata alrededor del día 15 postparto, pensamos que esta capacidad de termorregulación en las crías no es percibida de manera normal por las madres tratadas con capsaicina. Utilizamos estas evidencias y los hallazgos de nuestro estudio para construir la maquinaria conceptual que permite proponer los mecanismos subyacentes a las particulares alteraciones aquí reportadas en la relación de las madres-capsaicina y sus camadas.

ABSTRACT

In this study we analyze long-term effects produced by neonatal malnutrition and the administration of the neurotoxin capsaicin in the rat. To evaluate the effects of these influences in the Wistar rat a design was conducted during adult life, including the recordings of maternal behavior observed during the sensitization period in the case of the malnutrition, or during the postpartum period in the case of the capsaicin experiment. One of the undernutrition methods included partial pups separation from the maternal nursing and feeding (DxP- Experiment 1) the other one was underfeeding the pups by a foster maternal mother with nipple ligation (DxL-Experiment 2). In the last experiment (Cap- Experiment 3) capsaicin (50 mg /kg s.c.) was injected during the second day of life, in litters normally raised. After weaning (day 21 postpartum) youngs were raised having free access to food (Purina chow) and water. From the 90 days of life the sensitization process were done with the neonatal underfeed adults females and the controls of the experiments 1 y 2. All virgins females were housed seven days with young pups (2-3 days of life) that were daily replaced by "fresh pups". During this type of maternal induction were registered twice a day (0900 and 1900 hr) the behaviors displayed by the females to the pups or the environment. In all cases capsaicin females and theirs controls were mated with adult intact males. The litters obtained were observed every other day to record the behavior displayed by the females isolated or during the maternal retrieval tests. Maternal behavioral changes from Experiments 1 y 2 show that perinatal experimental undernutrition mainly affect the maternal performance during the sensitization. We found significative reductions in the onset of pup retrieval day, delayed in the latencies to retrieve, reductions in the number of carried pup and in the percentage of adult neonatal undernourished females (Exp 1 and 2) showing pup retrieval. Moreover, neonatal undernutrition provoked alterations in the mother-infant behavioral interaction such as increments in the burial, decrements in the pup grooming and sniffing. Neonatally underfed females exhibited significative grooming and gnawing frequencies. Our proposal indicates that the females were more motivated to attend external stimuli, reducing the care to the pups. Additionally females with increased grooming increments showed high emotionality, probably induced by the behavioral retrieval test manipulation. All these factors were associated to the abnormal expression in maternal behavior notwithstanding if the neonatal undernutrition occurred or not together with deprivation of maternal care during the lactation period. Experiment 3, indicated that maternal behavior in neonatally capsaicin treated-females was severely affected. Thus was significant the increment in the latency of pup retrieval and alterations to show nursing of the litter. Nursing was faster, more frequent and prolonged in time. These alterations in the maternal performance were associated to changes in thermal perception and thermoregulatory mechanisms in the females after capsaicin treatment. The evidence that pup's thermoregulatory neural mechanism is functional until postnatal day 15 and not recognized by capsaicin-treated females is part of the conceptual framework used to explain the alterations here described. Present findings show that maternal sensitization is altered by neonatal undernutrition and that capsaicin treatment provokes severe deficiencies in the maternal nursing of dams.

I. INTRODUCCION

I. ALTERACIONES PERMANENTES EN EL SISTEMA NERVIOSO POR LA PRESENCIA DE ESTIMULOS NOCIVOS DURANTE LA FASE CRITICA DEL DESARROLLO

Uno de los problemas fundamentales a resolver en la neurobiología del desarrollo es el estudio de la compleja interacción entre los factores, endógenos y exógenos, que permiten al sistema nervioso (SN) su maduración anatómica y funcional. Así, desde esta disciplina, diversos marcos teóricos y técnicas de análisis han sido adoptados, dependiendo de las preguntas particulares de investigación.

El marco conceptual de la presente investigación, se basa en la idea que, al interferir con el desarrollo postnatal temprano del sistema nervioso (en la llamada fase de crecimiento acelerado), utilizando diversos estímulos, provocamos alteraciones morfológicas, fisiológicas y/o conductuales reconocibles tanto en el corto como en el largo plazo. Dichas modificaciones serán evidencias de la alteración provocada, básicamente, en las estructuras y circuitos neurales, así como en las conductas que se desarrollaban al momento de aplicar el estímulo nocivo (Morgane y col., 1993).

En efecto, el desarrollo del SN puede entenderse como una compleja serie de cambios secuenciales, que transforman al sistema de una organización temprana, relativamente simple, a un sistema de complejidad progresiva, hasta que se alcanza un estado de cierta estabilidad morfológica y funcional. Así, el tejido cerebral tendrá propiedades funcionales distintas en cada fase de su desarrollo, las cuales estarán determinadas tanto por programas establecidos genéticamente, como por el impacto que pueden ejercer los impulsos nerviosos, por ejemplo al ser transmitidos desde la periferia hacia los centros neurales (Jacobson, 1991).

Basado en su observación y descripción de los procesos de desarrollo y organización del sistema nervioso Dobbing, propuso el concepto de Periodos Críticos (PC) (Morgane, 1993). Durante estos periodos se ha propuesto que el tejido cerebral es altamente vulnerable, en su desarrollo y organización, a la acción de diversos estímulos. Se sabe que en los PC la marcada vulnerabilidad estructural y funcional coincide con la fase donde el tejido

neuronal muestra su máxima capacidad de proliferación, migración, diferenciación y establecimiento de los primeros contactos sinápticos (Winick y Rosso, 1975).

Los procesos histogénicos como la sinaptogénesis o la mielinización fuera del sistema nervioso central, y que ocurren posteriores a la proliferación, pasan también por periodos críticos de alta vulnerabilidad a diversos estímulos externos, particularmente presentes en la etapa postnatal temprana

Por ello, y en vista de que cada zona cerebral sigue un ritmo y un tiempo distinto de proliferación, los periodos críticos para cada estructura nerviosa se han conceptualizado como heterocrónicos. Así, esta diversidad en tiempo, trae como consecuencia que los factores epigenéticos tengan acciones de intensidad distinta, dependiendo del momento del desarrollo en el cual el organismo los halla padecido, y por supuesto de la duración e intensidad del estímulo nocivo

Si bien cada región del SN tiene su propio periodo de crecimiento acelerado, los estímulos nocivos podrán tener acciones nocivas importantes aún fuera de este periodo (Morgane y col., 1993).

Es fundamental señalar que en relación a los procesos del crecimiento y maduración cerebral, no existe, aparte de los PC, otra etapa de la vida en la cual el cerebro sea más susceptible de sufrir profundas modificaciones en su organización anatómica y funcional (Salas, 1996). Por ello, los procesos neurales organizacionales durante la etapa prenatal y postnatal temprana, durante los PC del SN, representan eventos cruciales "únicos", organizados dentro de estrictos periodos, donde cada región del cerebro, con su distintiva colección de unidades histológicas, sigue un plan de desarrollo secuencial organizado en el tiempo y en el espacio, y aún asociado finamente al grado de desarrollo de estructuras vecinas, teniendo como finalidad producir en forma y función un todo correctamente integrado (Salas, 1996).

La utilización de modelos animales experimentales en el estudio de los efectos de diversas influencias durante el desarrollo del sistema nervioso, tanto prenatal como postnatal, resultan fundamentales, para entender cómo estas acciones pueden comprometer

la integridad anatómica y funcional del sistema tanto a corto como a largo plazo (Salas, 1996).

En gran parte la vulnerabilidad del SN depende de su compleja programación de desarrollo, por ello, el interferir con alguna parte de esta secuencia, principalmente durante la fase más activa, producirá efectos irreversibles no sólo sobre la organización tisular del SN sino también sobre su actividad eléctrica, bioquímica y en el control conductual (Dobbing, 1972).

Es en este sentido que la rata albina en desarrollo, constituye un modelo adecuado para el estudio de los efectos de influencias nocivas, considerando que su crecimiento cerebral, si bien comprimido en el tiempo es muy similar al de la especie humana (Salas, 1978).

En el presente estudio analizamos los efectos provocados por dos estímulos nocivos presentes durante la fase acelerada de desarrollo (PC) del SN de la rata hembra, la desnutrición postnatal durante la lactancia y la administración del neurotóxico capsaicina (Cap) durante el segundo día de vida postnatal. Para reconocer los efectos a largo plazo de estas dos maniobras experimentales analizamos, tres meses después de la presencia de los estímulos nocivos, la ejecución de la conducta maternal en las hembras.

II. ANTECEDENTES

Estudios desde diferentes disciplinas científicas han concentrado sus esfuerzos para analizar la relación entre la desnutrición durante los periodos críticos de desarrollo y los cambios permanentes en la función cerebral. Así, se ha descrito claramente que la desnutrición es uno de los factores ambientales que afectan la maduración cerebral y el desarrollo funcional durante etapas críticas, ya que origina una disminución en el abastecimiento de nutrimentos y energías necesarias para el desarrollo óptimo de estructuras celulares y sistemas metabólicos esenciales (Morgane, 1993)

Cuando por la desnutrición se afectan a los organismos en desarrollo, se producen alteraciones permanentes en la morfología, fisiología y neuroquímica cerebral, que se manifestarán finalmente en las funciones superiores del SN, particularmente, se sugiere, en la esfera del desarrollo cognitivo (Winick, 1977).

Es obvio que la limitada posibilidad y escaso control de los estudios sobre la desnutrición humana ha llevado a desarrollar modelos animales apropiados con amplias ventajas. Así, particularmente la desnutrición neonatal se ha estudiado practicando la privación perinatal de alimento o la ingesta de dietas con escaso contenido en proteínas, en especies altriciales, como la rata albina (Bass y col., 1970; Forbes y col., 1975; Franková, 1973; Salas, 1995).

La ventaja de los estudios utilizando modelos animales es, entre otras, que el control de la dieta, mientras transcurre el crecimiento de los animales control y/o experimentales, puede acompañarse de ciertas manipulaciones en el medio ambiente donde ocurre el crecimiento, produciéndose entonces variaciones menores o específicamente manipuladas. Adicionalmente pueden estudiarse los efectos de la privación de alimento por periodos muy cortos o prolongados. Y aún de manera similar las consecuencias pueden evaluarse inmediata o tardíamente.

Quizás la oportunidad más importante de los estudios de desnutrición en animales se debe a la posibilidad de poder correlacionar cambios conductuales con eventos neurofisiológicos, histológicos e histoquímicos dentro de la actividad global del sistema nervioso (Winick, 1977). La descripción morfológica del daño provocado por la

desnutrición en áreas específicas del SN, junto con la descripción de alteraciones conductuales puntuales en modelos animales, sería la base para entender las alteraciones en los sujetos desnutridos.

Es necesario señalar que la interpretación de los resultados obtenidos en los estudios de desnutrición en modelos animales no son del todo "puros" así, las alteraciones del ambiente del neonato como consecuencia de los procedimientos de desnutrición puede provocar cambios conductuales independientemente del estado nutricional de la madre o de las crías. Aún en la maduración prenatal, donde las alteraciones conductuales de la cría se esperarían mínimas, la conducta maternal quizás influye también en el desarrollo fetal independientemente de la nutrición de la madre (Smart, 1983).

Al considerar las posibles extrapolaciones hacia el humano de los efectos de la desnutrición encontrados en animales, se necesita ser muy cuidadoso sobre todo atendiendo a los momentos específicos de la presencia de la desnutrición en relación al momento de desarrollo del sistema nervioso (Morgane, 1993).

2. EFECTOS NEURALES PROVOCADOS EN LA RATA POR LA DESNUTRICION DURANTE LA LACTANCIA

La perspectiva conceptual de la heterocronia en el desarrollo y maduración de los circuitos neuronales, ha permitido sugerir que las estructuras cerebrales que cursan por un periodo postnatal de crecimiento acelerado son más vulnerables a sufrir alteraciones, si la desnutrición del sujeto ocurre durante su lactancia (Morgane, 1993).

Considerándose, no sin debate, que durante la gestación el organismo de la madre amortiguara parcialmente la falta de nutrientes, de manera que la gravedad de la desnutrición podría no manifestarse con la misma intensidad en las crías, aunque si llegaría a alterar la formación de algunas estructuras de desarrollo temprano (Dobbing, 1990).

Sin embargo, es ampliamente aceptado que durante la lactancia las crías quedan expuestas más directamente a la influencia de eventos ambientales. De tal modo que en ese particular momento las estructuras en desarrollo y por ello altamente vulnerables, sufren modificaciones irreversibles si se presenta la falta de cantidades suficientes de nutrientes.

por ejemplo, la corteza cerebral (Barnes y Altman, 1973, Sharma y col., 1987) la corteza cerebelar (Griffin y col., 1977), el núcleo raquídeo dorsal (Díaz-Cintra y col., 1981), el núcleo del locus coeruleus (Díaz-Cintra y col., 1984), la fascia dentada (Díaz-Cintra y col., 1991) y el bulbo olfatorio (Debassio y Kemper, 1985) En todas ellas el proceso de proliferación y migración celular se lentifica por la desnutrición, resultando en una reducción del número de células nerviosas, particularmente se sugiere, de interneuronas.

En el presente estudio analizamos si la desnutrición de las crías durante su periodo de lactancia, provoca alteraciones en la ejecución de la conducta maternal (ejecutada por las hembras adultas, durante la sensibilización con crías), por ello, la siguiente revisión de los datos disponibles sobre las diferentes alteraciones morfo-funcionales en el sistema nervioso, se refiere fundamentalmente, a las reportadas como consecuencia de la desnutrición postnatal temprana en la rata.

Alteraciones en la morfología y bioquímica del SN. Uno de los primeros cambios que se observan como consecuencia de la desnutrición es la reducción en el tamaño cerebral, no obstante de reportarse que en algunos casos el déficit puede ser muy ligero (Morgane y col., 1978). La reducción se ha reportado de entre 10 y 25 %, además de una disminución en el ancho y largo de los hemisferios (Angulo y Colmenares., 1979).

Se ha sugerido que esto podría deberse a una disminución importante en el número de células nerviosas, más la reducción en la extensión de los campos dendríticos, lo que se confirma al observarse una mayor compactación celular en diversas áreas cerebrales del animal desnutrido (Cragg, 1972; Gambeti y col., 1974).

Examinando los efectos de la desnutrición durante la lactancia, Winick y Noble, 1966, citados por Altman y col., 1970, estimaron el peso total, el contenido de proteínas, ARN y ADN en diversos órganos después de la destrucción en la lactancia. Encontraron que la disminución de estos parámetros sugería una reducción en el número celular cerebral, sin aparentes alteraciones en el tamaño celular. Por el contrario la desnutrición provocada después del destete y hasta el día 42 de edad, resultaba en una reducción proporcional en el peso total, contenido de proteínas, ARN y ADN en la mayoría de los órganos, pero no en

los pulmones ni en el cerebro. En estos, el contenido de proteína y la proporciones de ARN estaban reducidas, pero no el contenido de ADN. Lo anterior indicaba que el tamaño de las células era pequeño pero que su número total no había cambiado, postulándose que la desnutrición podía afectar diferencialmente el tamaño o el número celular dependiendo de la fase del desarrollo en que estaban los órganos afectados (Altman, 1970).

Los cambios regionales producidos por la desnutrición en el cerebro comenzaron a reportarse sistemáticamente a partir de los hallazgos anteriores. Culley y Lineberg, 1968, describieron alteraciones en el peso y contenido de ADN del cerebelo como consecuencia de la desnutrición durante la lactancia (citados por Altman, 1970).

Por su parte Chase, Lindsey y O'Brien, 1969 (citados por Altman y col., 1970), compararon, a los 18 días de vida, el desarrollo del cerebro y del cerebelo entre crías de ratas crecidas en camadas de 16 ó 4 individuos por madre. Los resultados mostraron que los pesos de ambas estructuras fueron significativamente menores en los grupos de desnutrición, con una reducción del 9% en el cerebro y 18 % en el cerebelo.

Por lo que toca al estudio de la corteza cerebral el fenómeno de compactación es claro, así se ha descrito que el grosor cortical es menor en aproximadamente un 15 % (Clark y col., 1973). Particularmente se ha sugerido que la población celular más reducida son las células gliales, quizás debido a su formación tardía en la ontogenia neural. Decrementos significativos también se han descrito para interneuronas de las capas II y III de la corteza cerebral, también de formación tardía en la ontogenia cerebral (Escobar, 1993).

El estudio más detallado del cerebelo de la rata desnutrida, ha revelado cambios similares a los descritos para la corteza cerebral. Un menor grosor cortical con disminución de células (Barnes y Altman, 1973; Chase y col., 1969; Clos y col., 1977). En particular se ha descrito que las células granulosas disminuyen su población. También que existe una hipoplasia de los árboles dendríticos, en particular los de las células de Purkinje, que en la capa molecular muestran una reducción significativa de entre el 24 y el 37 % (Hilman y Chen., 1981).

En estos mismos sujetos, y no obstante que las capas germinales del cerebelo persisten unos días más que en los animales control, la producción celular está empobrecida.

Por ello existe un marcado retardo en la migración de las células diferenciadas hacia la corteza (Sharma y col., 1975). Todas estas alteraciones se han atribuido a que la desnutrición produce alargamiento en el ciclo celular de las células que emergen de la capa germinal, lo cual lentifica y retarda, entre otros, el proceso de producción y migración celular (Lewis y col., 1975; Patel., 1983; Morgane y col., 1993).

En el caso de algunas estructuras subcorticales, que son de formación temprana, se reportan poco alteradas por la desnutrición neonatal. Si bien ocurren en ellas procesos tardíos que llegan a alterarse, como la formación de los campos dendríticos del hipocampo (Ahmed y col., 1987; Díaz-Cintra y col., 1991) y los del tallo cerebral (Hammer y Marthens., 1981).

Por otro lado Díaz-Cintra y col., 1991, describieron deficiencias en las células granulares del giro dentado, que son el blanco de aferencias multimodales provenientes de diversas estructuras.

Importantes han sido las aportaciones de nuestro grupo de investigación cuando se han analizado los efectos de la desnutrición postnatal en el sistema nervioso central. Hemos descrito deficiencias importantes en las ramas dendríticas de las neuronas en los núcleos talámicos no específicos, conectados a circuitos polisensoriales. Para los núcleos específicos no se ha demostrado, hasta ahora, ninguna alteración (Salas y col., 1986).

De manera similar al describir los cambios morfológicos en núcleos de la amígdala temporal como consecuencia de la desnutrición, hemos reportado que en los núcleos amigdalinos basolateral, central y medial se provocó un decremento significativo en el área somática y dendrítica de las células nerviosas, siendo estas diferencias acentuadas hasta antes de los 40 días de edad (Escobar y col., 1993). Utilizando la técnica de Golgi-Cox, mostramos que las neuronas del claustrum también sufren dos modificaciones importantes; disminución en el área somática y dendrítica, así como reducción en el número de ramas dendríticas (Escobar y col., 1995).

La formación hipocampal, estructura arquicortical prominente y que constituye un complejo sistema neuronal en el cerebro de todos los mamíferos, ha sido analizada después de estar sujeta a diversos periodos de desnutrición pre y postnatal (Lewis y col., 1979),

demostrándose que la desnutrición reduce el número celular en la porción del giro dentado y prolonga moderadamente el tiempo total de la fase de síntesis de ADN (Bedi y col., 1991).

Al estudiar el desarrollo del área sensitivomotora de la corteza cerebral en animales desnutridos se han reportado alteraciones en el proceso de laminación, reducción en el grosor y retardo en el depósito de la mielina (Bass y col., 1970; Wiggings y col., 1978). Adicionalmente a esta descripción nuestro grupo de investigación también ha mostrado una reducción en el número de sus espinas y en la densidad dendrítica de las neuronas piramidales grandes de la capa V de la corteza frontal (Salas y col., 1974, Salas, 1980).

Uno de los eventos tardíos más importantes de la histogénesis nerviosa es sin duda el proceso de mielinización, que se lleva a cabo principalmente durante la lactancia. Así se ha descrito que las fibras nerviosas en los animales desnutridos tienen una menor cantidad de mielina y que su composición está alterada, de manera que algunos componentes lipoproteínicos se encuentran en desproporción con respecto de su cantidad en la mielina de las ratas control (Egwin y col., 1986; Nakhsi y col., 1975; Reddy y col., 1979; Reddy y Horrocks., 1982).

Con referencia a los cambios en la actividad bioquímica cerebral como resultado de la desnutrición, los hallazgos no son menos importantes. Así, los análisis de la noradrenalina y la serotonina cerebral en las ratas desnutridas de diferentes edades han revelado cómo estos dos neurotransmisores están elevados (Stern y col., 1975). Particularmente el aumento de la serotonina se ha establecido en hasta en un 200 % en el diencefalo y el tallo cerebral. Por otro lado se ha descrito que a nivel periférico los niveles de norepinefrina aumentan (Seidler y col., 1990), asignándose este aumento a la pobre capacidad de la norepinefrina para unirse a sus receptores α_2 y β (Stern y col., 1975).

Estudiándose la actividad de la acetilcolina, a través de caracterizar la actividad de su enzima, la acetilcolinesterasa, se ha demostrado que en los animales desnutridos existe un retardo importante en la formación de las sinapsis colinérgicas, sobre todo en la corteza cerebral (Stern y col., 1975).

Por otro lado, el análisis bioquímico del contenido de ARN del hipotálamo ventromedial durante periodos perinatales de desnutrición ha mostrado que se produce un

notable incremento en este parametro cuando se estima a los 150 dias de edad (Kuchar y col., 1992). En contraste el ARN de la región lateral hipotalámica no se altera como consecuencia de la desnutrición. En otra estimación, el contenido de grasa en los animales desnutridos se encontró significativamente disminuido en la región retroperitoneal, epididimal y en el hígado (Kuchar y col. 1992). Es muy importante señalar que estas alteraciones se obtuvieron al separar a las crías de su madre por espacio de 8 horas durante 5 días consecutivos.

Para el estudio de la actividad eléctrica cerebral, particularmente se han analizado las respuestas (potenciales provocados) de los animales desnutridos expuestos a estímulos luminicos y somatosensoriales (Morgane y col., 1978, Salas, 1973). En los animales desnutridos se ha reportado que el umbral de disparo se eleva y la latencia de la respuestas aumenta en una proporción del 15 % al 20 % durante los primeros 15 días postnatales. Estas alteraciones se han asociado a una lentificación de los procesos de maduración neuronal, así como al retardo en los procesos de mielinización, lo que provoca entonces una conducción lenta del impulso nervioso (Salas, 1973). Por su parte los registros obtenidos por la estimulación auditiva han mostrado que la respuesta es menor, tanto en la corteza como en el tallo cerebral de los animales desnutridos (Mourek y col., 1967). Esto, se sugiere, podría reflejar la reducción en el número de espinas dendríticas y la menor densidad de las terminales presinápticas.

Diversos estudios de la actividad eléctrica espontánea también se han realizado en animales desnutridos. Como era de esperarse por las observaciones ya descritas de los potenciales provocados, se ha reportado que existe un retardo en la adquisición de patrones electroencefalográficos adultos en las áreas frontales y el hipocampo (Morgane y col., 1985), en áreas corticales temporales y occipitales (Salas, y Cintra, 1975) y en el bulbo olfatorio (Almli y col., 1985).

Durante el registro eléctrico del patrón de sueño, diversas alteraciones se han descrito en el modelo del animal desnutrido. Existe una reducción diferencial del sueño paradójico, siendo mayor su frecuencia en la noche de estos animales (Forbes y col., 1977). También se ha descrito que el número de ciclos de sueño se reduce, aunque éstos resultan

más prolongados (Díaz-Cintra y col., 1988) Similarmente ha sido reportada una amplitud reducida en los episodios del REM en las ratas desnutridas pre y neonatalmente (Díaz-Cintra y col., 1988) Este mismo grupo de investigación ha descrito una distribución circádica distinta de los patrones de la fase de sueño paradójico que se caracteriza por un retraso en la fase del nictamero

3. ALTERACIONES CONDUCTUALES COMO CONSECUENCIA DE LA DESNUTRICION

Durante el desarrollo postnatal temprano de las crías que cursan por periodos de desnutrición, en general se han descrito retardos y alteraciones en la expresión de las primeras conductas motoras, así como en la ejecución de algunos reflejos de aparición temprana durante la ontogenia postnatal. Así se ha reportado la persistencia del reflejo de prensión (Altman y col., 1971), deficiencia notoria para orientarse hacia la luz (Biel, 1939) o hacia el nido (Altman y col., 1971). También durante la lactancia se ha reportado una pobre capacidad para competir con sus hermanos, en la búsqueda de alimento materno (Franková, 1973). Las crías desnutridas de corta edad se han descrito con menor actividad motora, así como menor emisión de vocalizaciones ultrasónicas para atraer a su madre (Hunt y col., 1976).

La deficiente exploración del medio por parte de los neonatos desnutridos se ha descrito junto con retardos significativos en la aparición gradual de los patrones motores que caracterizan a las conductas de exploración horizontal con husmeo y exploración vertical (Hall y col., 1979), la actividad de escarbar y trepar (Massaro y col., 1977), así como alteraciones en su conducta social (Franková, 1973)

Estudiando las consecuencias de la desnutrición durante la succión de las camadas, Vendite y col., describieron para el día del destete, la latencia al retiro de la cola provocada por estimulación nociceptiva calórica en las crías (utilizando el analgesímetro "tail-flick"). Estas latencias fueron obtenidas antes y después de que las crías se habían sometido a un estímulo novedoso, que en los animales bien nutridos se sabe dispara un mecanismo de analgesia (Fanselow, 1985)

Los resultados reportados por el grupo de Vendite mostraron que en los animales desnutridos la analgesia inducida por el estímulo novedoso (en este caso la prueba de campo abierto) no se registró. Los autores sugirieron que esta ausencia pudo haber sido provocada por la disminución de β -endorfina en los animales desnutridos sometidos a ambientes novedosos (Vendite y col., 1987; 1985).

En relación al desarrollo conductual de los animales desnutridos, diversas son las aportaciones de nuestro grupo de investigación. El estudio de la maduración del patrón motor de nado, mostró que tarda de dos a tres días más en madurar en los animales desnutridos. Este retardo se observó a través de describir la flotación y el nado en círculos persistente en los animales desnutridos. Además de observarse retardo en la habilidad para erguir la cabeza fuera del agua, el retardo en la aparición del nado en línea recta y el persistente movimiento de flexión y extensión de los miembros anteriores en los desnutridos, en oposición a la postura de hiperextensión que caracteriza a los animales control (Salas, 1972; Salas y col., 1995).

Estas alteraciones se interpretaron a la luz de las posibles alteraciones en los circuitos corticoespinales y vestibulares que participan en el control neural de estos patrones de movimiento (Salas y col., 1995). También hemos estudiado longitudinalmente el desarrollo de los diferentes componentes de la conducta de aseo en animales desnutridos. Este estudio, consistió en analizar el trazo poligráfico obtenido mientras el animal ejecutaba diferentes patrones de aseo corporal. Como resultado de la desnutrición de las camadas encontramos que después del destete, la ejecución del aseo dirigido a la cara, la cabeza, el lamido hacia la región ventral y el rascado se incrementaron (Salas y col., 1991). Las secuencias temporales en el desarrollo de estas ejecuciones no mostraron alteración alguna por la desnutrición.

Dentro de la discusión de los resultados, establecimos la posibilidad de alteraciones en la maduración de los circuitos que controlan la ejecución del aseo, como mecanismo subyacente a los cambios que se reportaban, sin descartar que las modificaciones en la relación madre-crias, como consecuencia de la técnica de desnutrición empleada, podía también ser agentes causales de las alteraciones encontradas (Salas y col., 1991).

En relación a la maduración de reflejos durante el desarrollo, hemos estudiado, los efectos de la desnutrición sobre el reflejo de micción. Esta respuesta, es normalmente

provocada por la madre durante las tres primeras semanas de vida del neonato. El lamido de la madre sobre la región anogenital de la cría provoca la micción y la defecación, junto con una hiperextensión de su tren posterior y flexión de la pelvis (De Groot, 1985). En las ratas macho desnutridas hemos descrito una reducción en las latencias para provocar el lamido anogenital por estimulación de la región perigenital con un pincel de pelo fino. Asimismo, se ha documentado que el desplazamiento del tren posterior hiperextendido y la separación transversal del mismo se encuentran reducidos como consecuencia de la desnutrición (Salas y col., 1995).

Si bien los mecanismos subyacentes a esta alteración están bajo estudio, se ha propuesto que están asociados a las alteraciones morfométricas y funcionales provocadas por la desnutrición en las motoneuronas de región lumbosacra de la médula espinal. En este sentido es pertinente señalar que hasta el momento ningún estudio se ha realizado para analizar histológica o morfométricamente regiones inferiores de la médula espinal.

Durante el estudio del comportamiento de animales adultos que cursaron periodos de desnutrición postnatal temprana, esto es, de consecuencias en el largo plazo, diversas evidencias han apuntado que, no obstante periodos largos de rehabilitación nutricional, los animales muestran dificultad en diversas tareas de aprendizaje espacial y de discriminación (Campbell y Bedi, 1989; Rogers y col., 1986).

En efecto, los diversos estudios sobre la capacidad de aprendizaje, en sus diferentes modalidades experimentales (instrumental, de discriminación visual, asociado a la memoria espacial, de evitación de estímulos nocivos, etc.) han revelado coincidentemente que en los animales desnutridos se describen pobres desempeños en las diversas pruebas registradas (para una revisión más amplia se recomienda la excelente revisión de García-Ruiz y col., 1994).

Por lo que respecta a la coordinación locomotriz de los animales desnutridos, Clarke y col. (1992) analizaron la ejecución de la locomoción rápida en animales adultos desnutridos durante el periodo de lactancia. Los parámetros morfométricos registrados por este grupo mostraron que además de la reducción en peso provocada por la desnutrición, se encontraron reducción en el tamaño del cuerpo, longitud de la tibia y longitud de las patas

traseras. Los parámetros de velocidad, el tiempo empleado para ejecutar un paso durante el caminado, y el tiempo en el cual las extremidades estaban en contacto con el suelo durante el caminado se redujeron considerablemente en los animales desnutridos (Clarke, 1992). Estos animales desnutridos mostraron ser más rápidos que los animales control, no obstante que la relación temporal entre los parámetros registrados durante el caminar no se alteraron como consecuencia de la desnutrición.

Diversos autores, incluido nuestro grupo de investigación, han argumentado que las alteraciones conductuales observadas en los animales desnutridos a diferentes edades, tiene como causa asociada la alta emotividad. Así se ha descrito que la desnutrición promueve aumentos en la agresividad, aumento en las conductas que se sugieren indican temor o timidez, e incrementos en las conductas que indican una respuesta emocional exagerada, por ejemplo ante situaciones o ambientes novedosos (Salas y Cintra., 1979; Escobar y Salas, 1993).

En este mismo sentido, en la prueba de campo abierto, la prueba típica para medir emotividad, se ha descrito que las ratas adultas neonatalmente desnutridas permanecen más tiempo en el cuadro de salida, antes de iniciar la exploración. Esta última es generalmente muy pobre, con escaso husmeo. En situaciones de actividad libre los animales desnutridos muestran un estado de nerviosismo exagerado y cualquier evento extraño puede desquiciarlos y provocar en ellos respuestas de paralización motora y chillidos (Levistky y Barnes, 1970; Turkewitz, 1975).

Para analizar con más detalle la respuesta exagerada de los animales desnutridos adultos ante la presencia de estímulos aversivos, Almeida y col. (1992) estudiaron los efectos de las benzodiazepinas en las ratas desnutridas que se sometieron a un modelo de ansiedad usando un estímulo aversivo nociceptivo (evitación inhibitoria). Durante la prueba se identificaron fases de pre y post presencia de estímulo eléctrico, en donde los animales desnutridos mostraron incrementos significativos en la latencia para salir de la plataforma donde se aplicaba el choque eléctrico. Esto es, sobre este parámetro la administración de clordiazepóxido (CDP) no tuvo efecto. Por su parte, los animales control respondieron a la administración de 5 mg/kg de CDP incrementando su umbral para saltar después del choque,

y reduciendo su latencia para dejar la plataforma después del estímulo. De lo anterior se concluyó que en los animales desnutridos no se encontró ningún cambio en las respuestas y que pudieran asociarse a la administración de la droga (Almeida y col., 1992).

Los resultados descritos por los autores se interpretaron a la luz de las alteraciones provocadas por la desnutrición en la actividad del sistema GABA-benzodiazepinas, particularmente en los déficits mostrados en la concentración de glutamato descarboxilasa y en la reducción en los niveles de GABA y GAD cuando la desnutrición está presente después de la sexta semana de vida (Agarwal y col., 1981, citados por Almeida y col., 1992). Siguiendo con esta línea de investigación, el grupo anterior, estudió los efectos de la desnutrición y la reactividad al diazepam bajo diferentes tipos de estimulación ambiental (Santucci y col., 1994).

Teniendo en cuenta que los animales desnutridos muestran incrementos en la exploración del laberinto de brazos elevados, incremento en el número de transiciones en la prueba de luz-obscuridad y disminución en la reactividad al efecto ansiolítico del diazepam, los autores investigaron los efectos de la estimulación ambiental sobre esos mismos parámetros en animales adultos (70 días de edad) crecidos bajo desnutrición sólo durante la lactancia. Como modelo de estimulación ambiental, realizaron manipulaciones diarias de los animales desde el día del parto hasta los 70 días de edad, mismo día de inicio de las pruebas. El diazepam fue administrado 15 min antes de las pruebas (Santucci y col., 1994).

Los resultados del registro en el laberinto de brazos elevados mostró que la estimulación ambiental y la administración de diazepam incrementaron la exploración en los brazos abiertos del laberinto en todos los grupos. Las comparaciones realizadas por los autores mostraron que el diazepam incrementó las entradas a los brazos abiertos y el tiempo ahí en los animales control, pero no en los animales desnutridos no manipulados. Por otro lado, el diazepam no aumentó la exploración de los brazos abiertos en animales bien nutridos sin estimulación, pero incrementó el tiempo de permanencia en los brazos abiertos de los animales desnutridos más estimulación y en el grupo de desnutrición más manipulación más diazepam (Santucci y col., 1994).

En el análisis de los datos obtenidos para la prueba de exploración en ambientes iluminados-oscuros, esto es, las descripciones de las transiciones hacia los espacios de luz-obscuridad, se describió que no hubo ningún cambio asociado a la dieta, la situación de estimulación ambiental, o el tratamiento farmacológico. No obstante que los análisis múltiples de dieta vs estimulación, y estimulación ambiental vs tratamiento farmacológico, mostraron que los animales desnutridos y los control reaccionaron diferente a la estimulación ambiental y que la estimulación modificó la respuesta de la rata tratada con diazepam. Así la estimulación ambiental disminuyó la transición luz-obscuridad en animales bien nutridos tratados con diazepam, mientras que, en el grupo de animales estimulados y tratados con diazepam, las ratas desnutridas mostraron más transiciones que las registradas para su control. Por otra parte las comparaciones realizadas en la actividad locomotriz mostraron que la estimulación ambiental la redujo en el grupo control tratado con diazepam, pero no modificó la respuesta en el grupo desnutrido (Santucci y col., 1994).

Las conclusiones descritas por los autores señalaron que el mayor efecto de la estimulación ambiental, en todos los grupos, fue el de incrementar la exploración de los brazos abiertos en el laberinto elevado. Lo que indicaba que, no obstante la desnutrición, la manipulación podía reducir las respuestas de temor en un modelo de ansiedad. Por otro lado, el tratamiento con diazepam si bien incrementaba el número de entradas y el tiempo de permanencia en los brazos abiertos en las ratas control, no tenía ningún efecto en la exploración de los brazos abiertos de las ratas desnutridas no estimuladas. Esto es, se confirmó que la desnutrición perinatal produce una baja en los efectos de sustancias ansiolíticas benzodiazepinérgicas o nobenzodiazepinérgicas (Santucci y col., 1994).

Por su parte Laino y col., 1993., en un estudio farmacológico, midieron las acciones de drogas ansiolíticas en animales desnutridos adultos sujetos a la prueba de laberinto de brazos elevados. Los resultados de los grupos, antes de los tratamientos, mostraron que las ratas desnutridas tuvieron latencias más cortas para salir de los brazos abiertos. La administración de diazepam incrementó de manera dosis dependiente el tiempo de permanencia en los brazos abiertos en ambos grupos. La administración de diferentes concentraciones de alprazolam y buspirona, sólo tuvieron efecto sobre el tiempo total de

permanencia en los brazos abiertos. Este mismo efecto se observó, comparando las pruebas en los diferentes días, al usar propanolol, desipramina y fenelzina (Laino y col., 1993)

En oposición a otros resultados, estos autores no encontraron, cuando se analiza el número de entradas hacia los brazos después de los tratamientos, ninguna evidencia de diferencias entre los grupos. Los pocos cambios descritos permitieron afirmar a los autores que ninguna relación podía establecerse entre los efectos ansiolíticos esperados y la actividad locomotriz (Laino y col., 1993). De acuerdo a sus datos, los autores concluyeron que si bien algunas drogas actuando a través del complejo GABA-receptor de benzodiazepinas, como el diazepam y el alprazolam, podían mostrar un efecto anticonflicto similar para animales control y desnutridos, drogas que se sugiere interactúan con sistemas noradrenérgicos y/o serotoninérgicos (buspirona, propanolol, desipramina y fenelzina) provocaban, en las ratas desnutridas, un efecto anticonflicto significativo y selectivo en la prueba de laberinto de brazos abiertos (Laino y col., 1993).

3.1. Cambios en la expresión de la Conducta Maternal (CM) en hembras sometidas a diferentes tratamientos de desnutrición

Desnutrición presente durante la preñez y/o lactancia de las madres

Estudiando a la rata de la cepa Lister, Smart y col. (1973) fueron de los primeros en describir los cambios en la conducta maternal asociados a la desnutrición, provocada al dar diariamente a las 0930 horas, sólo la mitad del alimento consumido durante la gestación y lactancia de madres control. Los registros de la CM, los realizaron durante los 21 días de la lactancia.

Estos autores mostraron que la proporción de hembras desnutridas encontradas en el nido de crianza, al momento de iniciar las pruebas (0900, 1300 y 1700 hr), fue menor en comparación a sus control. Observándose las mayores diferencias para las 0900 y las 1700 horas. Si bien la desnutrición la habían provocado dando el alimento en la mañana, estos autores concluyeron que el régimen cíclico de alimentación alteró la permanencia en el nido de las madres desnutridas (Smart, 1983).

En este mismo estudio, pero usando otro grupo experimental de hembras desnutridas, encontraron que el número de hembras que realizó el acarreo de todas sus crías en menos de 10 min fue menor en comparación a las hembras control. Adicionalmente reportaron que las latencias de acarreo se elevaron considerablemente en el grupo desnutrido y que las madres desnutridas lamieron menos a sus crías (Smart, 1983). El análisis de otras conductas expresadas durante la prueba de CM mostró que las hembras desnutridas mostraban aumentos significativos de la conducta de "rearing" (exploración vertical; apoyando las patas traseras sobre el piso de la caja mientras las delanteras permanecen apoyadas sobre las paredes laterales de la caja o en el aire). Las correlaciones negativas obtenidas para el número de crías acarreadas y el tiempo empleado en el "rearing" indicaron que esta conducta fue una de las causas del pobre acarreo mostrado por las madres desnutridas (Smart, 1983).

Los autores concluyeron que como consecuencia de la desnutrición provocada en hembras adultas durante la gestación y lactancia, se provocaban alteraciones en la expresión de conductas maternas que involucraban el contacto con la crías.

Se sabe que como consecuencia de la desnutrición las madres producen crías más pequeñas, con deficiencias motoras y en general retardo en el desarrollo neurológico, por ello es necesario tener en cuenta que la CM, condicionada por el desarrollo de la crías, pudo haberse modificado por la desnutrición de la madre y el pobre estado de madurez y desarrollo en la crías (Culley, 1972; Hunt y col., 1976).

Por su parte Wiener y col., 1977, estudiaron la CM de hembras de la Cepa Sprague-Dawley que a partir del día 14 de la gestación y hasta el destete de sus camadas recibieron una dieta baja en proteína (8 %). Las hembras fueron observadas, del día 2 al 12 postparto dos veces al día: una vez durante el periodo de obscuridad (4 horas antes de que la luz se encendiera) y una vez durante el periodo de luz (4 horas después de prendida la luz) (Wiener y col., 1977).

Como resultado de los procedimientos de desnutrición practicados, las hembras desnutridas acarrearón menos crías que las hembras control. Estas diferencias se acentuaron conforme los días de la lactancia progresaban. Aún más, el porcentaje de madres desnutridas que construyeron su nido con materiales proveídos por el observador fue menor (Wiener y col., 1977). En este mismo estudio, los autores encontraron que las madres desnutridas

pasaban más tiempo con sus crías en el nido, sin mostrar la progresiva reducción en este parámetro mostrado por las madres control conforme avanzaba la lactancia. (Wiener y col., 1977). Nuevamente aquí sería necesario considerar que el pobre desarrollo motor y sensorial de crías de madres desnutridas, podría demandar un mayor cuidado materno.

Para probar esta interesante posibilidad, este mismo grupo realizó el análisis de la CM de madres criando neonatos con las características de desarrollo similares a crías de madres desnutridas. Así, analizaron la CM de madres que fueron adrenalectomizadas (adr) durante el periodo de gestación. Encontraron que a diferencia de las madres desnutridas las madres adr no mostraron disminución en la conducta de acarreo, ni mostraron alteraciones en la construcción del nido. Sin embargo, las madres adr, de manera similar a las madres desnutridas, permanecieron más tiempo en contacto con sus crías, sin mostrar decrementos en este parámetro conforme avanzaba la lactancia (Wiener y col., 1977)

Por lo anterior los autores concluyeron que las conductas de acarreo y construcción del nido, a diferencia del tiempo de contacto de las crías, no dependen del grado de desarrollo de la cría (Smart, 1983).

Siguiendo con el análisis de la expresión de la CM registrada en hembras desnutridas, expuestas tanto a crías bien nutridas como a crías desnutridas, Smart estudio la CM de la hembra de la cepa Lister (Smart, 1976). En este estudio, las hembras fueron desnutridas en la edad adulta, suministrándoles durante la preñez y la lactancia sólo la mitad de lo que usualmente consume una hembra control alimentada *ad libitum*. Las pruebas de acarreo fueron registradas durante los primeros 12 días de la lactancia, usando tanto crías bien nutridas como desnutridas. Estas pruebas fueron complementadas con el registro de la conducta exploratoria de la hembra en una caja de Perspex-fronted (Smart, 1976). Todas las pruebas de CM y de exploración fueron analizadas durante las primeras cuatro horas de la fase de oscuridad del ciclo luz-oscuridad (12x12)

El hallazgo central de este estudio fue que el acarreo de las madres control y de las desnutridas no se alteraba por el tipo de cría acarreada. Nuevamente, y de manera similar a otros estudios, las madres desnutridas mostraron latencias elevadas para ejecutar el acarreo de las crías, así como un menor porcentaje de crías acarreadas dentro de los primeros 5 min.

de iniciada la prueba (Smart, 1973). Asimismo, se reportó que las madres desnutridas exhibían una mayor frecuencia y duración de la conducta de "rearing". Adicionalmente se describió que las madres tanto control como desnutridas lamian más a las crías desnutridas

Por su parte Smith, (1976) estudió los efectos provocados por la desnutrición sobre la CM en hembras de la cepa Sprague-Dawley. La desnutrición en las madres gestantes se practicó desde el día 20 de la gestación hasta el final del estudio, día 25 postparto (Smith, 1976). La CM tanto de madres control, bien alimentadas, y desnutridas se estudió comparando los parámetros de permanencia en el nido, tiempo en que la madre permanece echada sobre las crías, acicalamiento de las crías, ejecución de "rearing", husmeo y escarbado. Todas las madres fueron evaluadas en su CM al ser expuestas ante crías bien nutridas o desnutridas. Las observaciones se comenzaron después de 2 horas de iniciada la fase de oscuridad del ciclo de luz-oscuridad.

Los principales resultados mostraron que la madres desnutridas y sus control, ejecutaron la misma CM tanto para las crías desnutridas como para las bien nutridas, lo que confirmaba previos hallazgos (Smith, 1976). No obstante, sólo las madres desnutridas tuvieron latencias muy largas para acarrear a las crías desnutridas, mayores incrementos en la conducta de "rearing" y de husmeo (Smith, 1976)

En la discusión de los resultados, la autora menciona que estas dos últimas conductas se incrementaron debido a que juegan un papel muy importante en la búsqueda del alimento, para el cual las hembras desnutridas muestran una gran motivación, interfiriendo así con la ocurrencia del acarreo (Smith, 1976).

Los autores discuten el retardo para iniciar la conducta de acarreo en las madres desnutridas aduciendo que quizás el tipo de estímulos (disminución en la frecuencia e intensidad de las vocalizaciones ultrasónicas y/o disminución o alteración de las señales odoríferas) provenientes de las crías desnutridas las haga menos atractivas, y que aún estas deficiencias sólo fuesen percibidas por las madres desnutridas (Smith, 1976). Esto último estaría en contradicción con el hecho de que la menor talla y el retardo en el desarrollo de las crías desnutridas las hiciese más atractivas para las hembras (Smart, 1983).

Desnutrición presente sólo en la etapa neonatal (lactancia) de las hembras

Los escasos estudios tendientes a analizar la CM de hembras adultas que fueron desnutridas sólo durante la lactancia provienen de nuestro grupo de investigación. Así Salas y col., 1984., describieron la CM de hembras sometidas a dos diferentes procedimientos de desnutrición durante la lactancia: separación del binomio madre-cría 12 horas al día (DxP), o crecimiento de camadas con hembras ligadas de los conductos galactóforos (DxL). Después del destete las hembras tuvieron acceso libre al agua y al alimento hasta la edad de tres meses, cuando después de la gestación parieron a sus camadas.

La CM, registrada durante las 2 hr posteriores al inicio de la fase de luz del ciclo luz-obscuridad, se observó diariamente del día 1 al 21 postparto. Los parámetros estudiados incluyeron la construcción del nido, el tiempo que la hembra permanencia echada sobre sus crías, la frecuencia de autoaseo, la conducta de giro y la latencia para iniciar el acarreo de las crías (Salas y col., 1984)

Los resultados mostraron que las madres desnutridas por los dos procedimientos tuvieron a lo largo de la lactancia de sus crías, déficits significativos en la construcción del nido. Del mismo modo, las madres tuvieron una disminución importante en el tiempo que pasaban con sus crías. Junto con estos datos nuestro grupo de investigación mostró que las frecuencias en la conducta de aseó fueron mayores en ambos grupos de desnutrición. Las latencias de acarreo de las madres del grupo de desnutrición DXP fueron significativamente mayores en los días registrados (4, 8 y 12 postparto), mientras que para el grupo DxL estas diferencias sólo fueron mayores en el día 8 postparto (Salas, 1984). Adicionalmente, describimos también que la conducta de giro sólo fue significativamente mayor en el grupo de desnutrición DxP para el día 7 de la lactancia.

Los resultados anteriormente descritos mostraron entonces que la desnutrición presente en hembras sólo durante su periodo neonatal de lactancia, alteraba la conducta maternal expresada en la vida adulta, no obstante que el ambiente fisiológico nocivo, producido por la desnutrición, se había compensado por un periodo de rehabilitación nutricional de casi 75 días (Salas, 1984). Es decir, se mostraba que la presencia de la desnutrición durante la fase crítica del desarrollo neural y conductual de una hembra, tenía consecuencias conductuales a largo plazo. En este caso específico alterar la ejecución de la

conducta maternal postparto, aún después de 75 días de rehabilitación nutricional (Salas, 1996)

En resumen, todos los datos de este apartado muestran que una hembra sometida a periodos de desnutrición (tanto en su etapa de desarrollo postnatal temprano, como en la vida adulta, durante la preñez y /o lactancia) tienen alteraciones importantes en la ejecución de su conducta maternal postparto. Y que aún, estas mismas alteraciones se reflejan en la ejecución de la CM registrada tanto en condiciones extremas de dispersión de las crías o desarreglo de su nido, como en la CM registrada sin alterar el ambiente de la crianza

4. NEUROTOXICIDAD DE FIBRAS SENSORIALES PROVOCADA POR LA ADMINISTRACION NEONATAL DE CAPSAICINA

La capsaicina, (8-metil-N-vanillil-6-nonemida) (Cap) es el principal ingrediente picante en las diferentes especies del género *Capsicum*, localizándose principalmente en las paredes de los frutos (Maga, 1975; Buck y Burks, 1986; Hajós, 1987).

El primer escrito sobre la farmacología de la Cap, o más precisamente del extracto impuro de paprika (pimiento rojo húngaro) llamado "capsicol", fue publicado hace más de 100 años por Hóyges en 1878; en el se llega a la conclusión de que "el agente actúa con gran neuroselectividad sobre las fibras sensoriales" (Szolcsányi, 1993). Sin embargo no fue hasta la década de los 40's, debido a una observación inesperada hecha por el farmacólogo húngaro Nicholas Jancsó, al examinar a un niño que había comido grandes cantidades de paprika, e intrigado por algunas de las consecuencias fisiológicas agudas que presentaba, que se inició la caracterización de los posibles efectos farmacológicos de la Cap, en los sistemas sensoriales de la mamíferos (Buck y Burks, 1986)

Para 1955, Jancsó había mostrado ya que las terminaciones nerviosas nociceptivas no sólo eran estimuladas, sino además bloqueadas en su acción por la administración de dosis altas de Cap (Szolcsányi, 1993).

Las acciones neurotóxicas de la Cap, administrada en las primeras 48 horas de vida de la rata, provoca alteraciones irreversibles en las fibras amielínicas tanto en el SNC como en el Periférico (SNP). Se ha estimado que una dosis de 50 mg/kg, administrada en las

primeras 48 horas de vida produce una destrucción del 80 % de la población total de fibras amielínicas y hasta un 20 % de destrucción de amielínicas delgadas (Buck y Burks, 1986).

Como puede ser esperado de la ablación morfológica de las neuronas aferentes, el tratamiento de ratas recién nacidas con Cap está asociado con déficits permanentes en las funciones sensoriales mediadas por estas aferentes, además de la alteración de los procesos efectores locales en los que también estas fibras participan (Nagy, 1982; Szolcsányi, 1982, 1990; Jancsó, 1984; Russel y Burchiel, 1984; Lembeck, 1987, 1988; Lundberg y Saria, 1987; Holzer, 1988, 1991; Maggi y col., 1990, 1991). La actividad de la droga para inducir degeneración neural se correlaciona con su habilidad para inhibir la función de neuronas aferentes finas.

Así entonces, el tratamiento de ratas recién nacidas con Cap es ampliamente usado para explorar las implicaciones funcionales de las neuronas aferentes primarias sensibles a Cap, esto se basa fundamentalmente en la idea de que la Cap afecta sólo fibras sensoriales, idea que como veremos más adelante está actualmente bajo una gran controversia.

Distintos reportes han demostrado que las dosis efectivas para inducir degeneración de fibras amielínicas de la raíz dorsal y terminaciones axonales en la médula espinal está situado entre los 5 y 15 mg/kg (Jancsó y Kiraly, 1981; Nagy y col., 1983; Jancsó, 1984). La dosis de 50 mg/kg, ahora la más usada, es considerada la que provoca una degeneración máxima de neuronas aferentes amielínicas. La pérdida de fibras amielínicas de los nervios safenos, alveolar inferior y mentoneano está en los rangos de 40 % (Lynn, 1984), 50 % (Welk y col., 1984), 58 % (Holje y col., 1983), 64 % (Scadding, 1980) y 67 % (Jancsó y col., 1977, 1980a). Esta variabilidad en la pérdida de fibras nerviosas es debida, probablemente a diferencias en la proporción de fibras amielínicas aferentes/eferentes de los nervios mixtos (Fried y col., 1988)

La pérdida de fibras nerviosas aferentes se ha asociado con la capacidad que tiene la Cap de destruir también los cuerpos celulares de los ganglios sensoriales espinales y craneales (Jancsó y col., 1977; Lawson y Nickels, 1980; Otten y col., 1983; Lawson y Harper, 1984; McDougl y col., 1985; Arvidsson y Ygge, 1986). La pérdida de somas en los ganglios sensoriales espinales y craneales tiene un rango que va de 28 % al 43 % (Otten y

col., 1983). Si bien son nuevamente los somas oscuros y pequeños los que son destruidos, hay también una degeneración en algunos somas de tipo A, claros y grandes, especialmente si las dosis de Cap son mayores a 50 mg/kg (Lawson y Harper, 1984).

Estudiando a las neuronas aferentes después del tratamiento neonatal con Cap, se ha demostrado con la técnica de HRP, una disminución en las neuronas del ganglio de la raíz dorsal provenientes de las paredes de la vejiga (Maggi y col., 1994). En este mismo sentido, en la médula espinal, el transporte transganglionar de las terminaciones centrales de las neuronas aferentes primarias que inervan la vejiga urinaria, está totalmente ausente (Jancsó y Maggi, 1987). Similarmente, el número de células del ganglio trigeminal, las cuales se marcaron retrógradamente con material fluorescente aplicado a la córnea, están disminuidas en un 87 % (Ogilvyl y col., 1991).

De las funciones aferentes que son alteradas por la administración neonatal de Cap se han descrito, la disminución en la percepción de calor y la incapacidad de termorregulación (Hori y Tsuzuki, 1981; Nonnerer y Lembeck, 1983; Dib, 1983; Hajos y col., 1983; Obál y col., 1983; Jancsó, 1984; Carrillo y col., 1994), la alteración en los reflejos cardiovasculares (Bond y col., 1982; Lembeck y Skofitsch, 1982; Lorez y col., 1983; Bennet y Gardiner, 1984; Donnerer y col., 1989), la alteración en algunos reflejos viscerales (Cervero y McRithchie, 1982; Sharkey y col., 1983; Santicioli y col., 1985; Holzer y cols., 1986), así como la alteración en algunos reflejos neuroendócrinos (Traurig y col., 1984 a, b; Altmann y Lembeck, 1986, 1987; Bennet y Gardiner, 1986; Donnerer y col., 1989, 1990). Todos estos cambios se relacionan, probablemente, con la ablación de neuronas aferentes amielínicas y sobre todo con la inhibición de la transmisión sináptica lenta en el cuerno dorsal de la médula espinal (Urbán y col., 1985).

Concurrente a la alteración en las modalidades sensoriales producto del daño sobre las neuronas aferentes sensibles a Cap, hay también cambios en la nocicepción y en la reacción de escape. La percepción de estímulos químicos nocivos está inhibida permanentemente como resultado de la acción neonatal del neurotóxico (Jancsó y col., 1980; Faulkner y Growcott, 1980; Gamse y col., 1980; Hayes y col., 1981a; Gamse, 1982; Saumet y Duclaux, 1982; Jancsó y col., 1984).

El tratamiento con Cap en ratas neonatas ha revelado una neurotoxicidad para neuronas aferentes primarias que muestran la misma especificidad en el animal adulto. Dentro de esta clase de neuronas, sin embargo la toxicidad en neonatos parece ser más extensa y menos limitada a las células contenedoras de SP. El tratamiento subcutáneo (s.c.) con Cap (50 mg/kg), durante las primeras 48 horas de vida, reduce marcadamente la inmunofluorescencia e inmunoreactividad de la SP en el asta dorsal de la médula espinal, en los núcleos trigeminales y en la sustancia gelatinosa, pero no en el asta ventral, en los núcleos interpedunculares, la sustancia nigra, la amígdala posteromedial, hipotálamo posterior y dorsomedial, núcleos paraventriculares, núcleos preópticos mediales, globo pálido, glándulas salivales o cualquier parte del tracto intestinal y en grandes regiones de la piel. Hay también una pérdida permanente de SP, detectado inmunohistoquímicamente, en los núcleos del tracto solitario. Este mismo tratamiento practicado en el día 10 ó 20, resulta en alteraciones similares del contenido de SP en diversas regiones cerebrales, si bien la disminución del péptido identificado no es tan alta (Buck y Burks, 1986).

Por su parte Panerai y col. (1983) reportaron que el tratamiento sistémico con Cap en ratas neonatas y el tratamiento intraventricular en ratas adultas produce una disminución específica de endorfinas en el hipotálamo. En ratas recién nacidas tratadas en los días 1 al 5 de vida con una dosis total de Cap de 750 mg/kg y sacrificadas 6 meses más tarde para la determinación del péptido, se encontró que los niveles hipotalámicos de endorfinas se redujeron hasta en un 75 %, mientras que los niveles en el cerebelo o en el cerebro medio no se alteraron. Como mencionamos anteriormente los efectos de la Cap en ratas recién nacidas, no son específicos para la destrucción de células contenedoras de SP, sino además se ha demostrado un decremento de CCK, VIP, y somatostatina inmunofluorescente en la médula espinal, región dorsal, cambios detectados aún a los dos meses después del tratamiento. La SP y la CCK también se demostró disminuida en la región ventral del canal central (Buck y Burks, 1990)

Panerai y col. (1983) reportaron que el tratamiento sistémico con Cap en ratas neonatas, y el tratamiento intraventricular en ratas adultas produce una disminución específica de endorfinas en el hipotálamo.

Hemos mencionado que la acción neurotóxica de la Cap depende de su administración, aguda o crónica, y de la edad del animal. Sin embargo en general se postula una clasificación de cuatro estadios en la respuesta de las fibras aferentes primarias sometidas a las acciones de la Cap:

- El primero es de excitación, debida a la despolarización de terminales periféricas, centrales o del cuerpo celular, la despolarización local da origen a potenciales de espiga regenerativos, liberando SP u otro neuropéptido dependiente de calcio.
- El segundo es el efecto que produce el bloqueo de la neurona sensorial, debido a la desensibilización de los receptores sensoriales para uno o más tipos de estímulos, teniendo, más tarde, una recuperación parcial de la despolarización.
- El tercero, es el deterioro neurotóxico selectivo a largo plazo, debido a la pérdida de excitabilidad de los receptores sensoriales, a la inhibición del transporte axonal, y a la disminución en el contenido de neuropéptidos. El cuerpo celular se preserva con mitocondrias hinchadas, mientras que el proceso axonal puede degenerar.
- Finalmente, el cuarto estadio es la destrucción celular irreversible, debido a la acumulación de calcio y a la cariólisis (Szolcsányi, 1993). Como puede observarse de la literatura anteriormente citada, desde los trabajos pioneros de Jancsó y col., que reportaron las primeras acciones neurotóxicas de la Cap sobre grupos neurales específicos al presente, se ha publicado mucha información concerniente a la neurotoxicidad de la Cap y sus efectos funcionales.

Así entonces, los estudios de las acciones neurotóxicas de la Cap en el sistema nervioso periférico han mostrado, ampliamente, que la droga es capaz de producir, con una marcada selectividad, la destrucción permanente de neuronas sensoriales primarias de diámetro pequeño, con orígenes somáticos o viscerales (Buck y Burks , 1986).

Por su parte, los primeros estudios anatómicos de la Cap en el SNC mostraron de manera consistente que la neurotoxicidad debida a la Cap, se limitaba a neuronas sensoriales de diámetro pequeño. Extensas áreas de destrucción después de la administración neonatal de Cap se describieron sólo en ciertas áreas de la médula espinal y del cerebro posterior caudal que recibían proyecciones aferentes de neuronas sensoriales de diámetro pequeño, esto es: en la sustancia gelatinosa del cuerno dorsal de la médula espinal, el núcleo espinal trigémino, el núcleo del tracto solitario y el área postrema (Jancsó y col., 1977; Jancsó y Kiliary 1980; Jancsó, 1981 todos citados por Ritter y Dinh, 1990).

Es en este último apartado, donde sin duda uno de los aspectos más interesantes acerca de las acciones de la Cap han sido revelados por el grupo de Sue Ritter y Thu Dinh de la Universidad Estatal de Washington. Inicialmente y hacia finales de los 80's mostraron que las acciones neurotóxicas de la Cap en animales adultos podían observarse para grupos neuronales del SNC, y que no necesariamente estaban relacionados con la información sensorial aferente.

La técnica histológica empleada por estos investigadores es el marcaje neuronal con plata cúprica. Esta tinción permite marcar axones nerviosos terminales en degeneración así como sus cuerpos celulares. Las observaciones de estos autores se han hecho tanto con microscopio de luz, como bajo microscopio electrónico (Dinh y Ritter, 1991).

Inicialmente en 1988, Ritter y Dinh, mostraron que la inyección de Cap (50 ó 90 mg/kg en una sola dosis) en animales adultos provocaba degeneración axonal en la oliva inferior, el núcleo olivar pretectal, el núcleo interpeduncular, el núcleo supraquiasmático, y la región septum lateral-accumbens medial. Adicionalmente cuerpos neuronales en proceso de degeneración fueron también descritos para el núcleo interfascicular del tegmentum ventromedial del cerebro medio, en el núcleo supramamilar y en la región hipotalámica posterior. Todas estas descripciones mostraron ser de efectos a largo plazo ya que una inyección posterior de Cap, a los 4.5 meses después de la primera, ya no produjo una degeneración mayor (Ritter y Dinh, 1988).

Teniendo en consideración que los efectos neurotóxicos de la Cap son mayores en ratas neonatas que en animales adultos, estos investigadores iniciaron una exhaustiva

descripción de la neurodegeneración observada en el SNC, 10 horas ó 6 días después de la administración de Cap (50-150 mg/kg en una sóla dosis) a ratas de 10 días de edad.

Los resultados confirmaron y aún extendieron el número de áreas dañadas en las ratas adultas. En los neonatos las áreas que mostraron la degeneración axonal y/o de terminales nerviosas fueron: la sustancia gelatinosa del cuerno dorsal, en el núcleo espinal trigémino, en el núcleo del tracto solitario y área postrema. En el tallo cerebral caudal la degeneración se observó en el núcleo olivar inferior medial y en el núcleo esfenoide.

En el cerebro medio la degeneración terminal se describió en el núcleo interpeduncular (subnúcleos rostrales, dorsomediales y dorsolaterales) y en una región dorsal que incluyó al núcleo rañe caudal y el interfascicular. A dosis mayores de 50 mg/kg la degeneración fue también descrita para el núcleo rañe en sus porciones dorsales, medial y paramedial. Teñido intenso de degeneración fue observado para el núcleo pretectal medial y olivar.

En el diencéfalo las terminales destruidas fueron evidentes en el núcleo geniculado ventrolateral (porción magnocelular), la parte medial de la habenula lateral, la región supramamilar, el hipotálamo ventromedial, el núcleo ventral reuniens y el núcleo supraquiasmático. Una tinción muy difusa y fina fue descrita para el hipotálamo lateral y el área preóptica lateral. En el cerebro anterior, la estructuras que mostraron terminales en degeneración fueron el núcleo preóptico medio, núcleo septohipotalámico, el núcleo septal lateral en su porción ventral, el núcleo del lecho de la estria terminal y la concha accumbens (Ritter y Dinh., 1990).

Adicionalmente se describieron fibras terminales en degeneración, presentes en estructuras asociadas al control neural de la olfacción, como el bulbo olfatorio accesorio, aparentemente en una región de él asociada al tracto olfatorio lateral, así como en el núcleo olfatorio anterior externo (Ritter y Dinh., 1990). Por lo que respecta a la retina, los autores describieron que el marcaje indicativo de degeneración se observó en la capa nuclear interna, así como en la capa flexiforme interna y capas del nervio óptico. Fibras teñidas con plata se observaron también en el propio nervio óptico y en el tracto óptico, ninguna degeneración se observó en la capa de células ganglionares (Ritter y Dinh., 1990).

Un análisis, sobre la particular degeneración de estructuras asociadas al sistema visual, mostró que la Cap en efecto degeneraba terminales de manera abundante en la capa plexiforme interna, y poca pero evidente en la capa plexiforme externa. La degeneración descrita para la capa plexiforme interna pareció estar asociada a una subpoblación de células bipolares. La degeneración de los cuerpos celulares fue descrita también en la capa de células ganglionares. Inclusive en la retina misma la degeneración, particularmente de la capas periféricas, fue documentada (Ritter y Dinh., 1991). Como se puede observar la degeneración de fibras y/o cuerpos neuronales en el sistema nervioso central de animales tratados en la vida temprana con Cap, abarca sitios donde aparentemente la actividad neuronal no está asociada directamente con la actividad de fibras amielínicas sensoriales del sistema nervioso periférico

5. CONDUCTA MATERNAL

La conducta maternal y su importancia biológica La conducta maternal (CM) se sitúa dentro de una categoría conductual más amplia llamada la Conducta Parental. Esta se define como cualquier conducta de los miembros de una especie hacia su congéneres reproductivamente inmaduros, incrementando la posibilidad de que sobrevivan, por lo menos hasta su madurez reproductiva (Rosenblatt, 1990)

En los mamíferos, la hembra es la que lacta y es la primera en dar cuidado al infante; estos cuidados se reconocen como conducta maternal. En algunos mamíferos el padre puede proveer de cantidades significativas de cuidado infantil, el cual es referido como conducta paternal.

Entre los mamíferos placentarios, la conducta maternal se acompaña del parto y la lactancia, compartiendo con ellas similares respuestas fisiológicas (hormonales). Existe una gestación real (gestación que se extiende más allá del periodo estral), la cual se basa en la formación del cuerpo luteo funcional, o en la retención de aquel, que de otra manera, sería activo sólo por un periodo de tiempo corto durante el ciclo reproductivo no fértil (Heap y col., 1977). El número de crías que la hembra produce durante cada ciclo reproductivo, fluctúa de una a varias, y la sincronización del parto con la lactancia, y de ambos con la aparición de la conducta maternal, asegura que las necesidades del recién nacido serán satisfechas.

El reducido costo metabólico de producir unos pocos jóvenes, comparado al alto costo metabólico de producir muchos, se ha consolidado entre los mamíferos gracias a la sustitución de este costo por uno menos costoso, pero más efectivo, el cuidado parental de la cría y, específicamente, la expresión de la CM (Rosenblatt, 1990).

Con respecto a los diversos patrones de CM, entre los mamíferos, el grado de desarrollo de la cría al momento de su nacimiento tiene importantes influencias sobre estos patrones. Los jóvenes pueden nacer precociales y móviles, altriciales e inmóviles o entre estos dos extremos. Los roedores proveen de buenos ejemplos de patrones de cuidado maternal en especies con crías altriciales (Numan, 1994)

En efecto, la mayoría de los roedores son dependientes, esencialmente inmóviles, e incapaces de regular su temperatura al momento de nacer. Las crías son mantenidas en un

nido que la madre construye previo al parto. El nido es un área separada y sirve para aislar al joven en la ausencia de la madre, por ejemplo cuando ella está buscando comida. Cuando está en el área del nido la madre yace sobre sus crías, sirviendo esto para dos propósitos: calentar a la cría, transfiriendo el calor de su cuerpo hacia la cría y, exponer su región mamaria, para provocar la conducta de lactancia (nursing) que provee de leche a la cría (Numan, 1994).

En el área del nido, la madre también puede lamer a las crías, estimulándolas a orinar y a defecar. Importantemente, el consumo de orina por la madre la provee de una significativa cantidad de líquido, que ella pierde en gran cantidad como resultado de la lactancia (Baverstock y Green, 1975; Gubernick y Alberts, 1985).

Por su parte las ovejas, cabras y otros ungulados sirven de buenos ejemplos para estudiar el cuidado maternal en especies que paren jóvenes precociales, los cuales siguen a sus madres después del parto. La mayoría de los primates proveen de buenos ejemplos de patrones de cuidado maternal en especies que paren a jóvenes semialtriciales y semiinmóviles (Numan, 1994).

Sin duda el cuidado maternal es necesario para el crecimiento y desarrollo de todas las crías de mamíferos, las cuales eventualmente se vuelven independientes de su madre. Conforme el crío gana edad, se incrementa la independencia y disminuye la responsividad maternal, estos procesos permiten que el destete ocurra (Numan, 1994).

Al describir los patrones de conducta maternal de los roedores, uno puede referirse a los patrones dirigidos hacia las crías (acarreo, lamido, amamantamiento) o patrones no dirigidos a las crías (construcción del nido, agresión maternal), todos los cuales son importantes para la sobrevivencia de la cría.

Si el sitio del nido es alterado, o si una de las crías es sacada de él, la madre ejecutará la conducta de acarreo o transporte. La madre, utilizando su boca, tomará la región de la nuca de la cría, acarreándola hacia el nido original o hacia el lugar donde construirá uno nuevo (Numan, 1994).

Al describir la CM uno debe también tener en cuenta que existen cambios no conductuales en la fisiología maternal que tienen un impacto importante en el éxito y/o

naturaleza de la CM. Los más obvios son los cambios endocrinos que subyacen a la lactancia. Menos obvios son los cambios en la temperatura corporal de la madre, la emisión de feromonas y los cambios en la responsividad al estrés del sistema maternal hipofisis-adrenales (Numan, 1994).

Si bien existe un súbito inicio del parto y la lactancia hacia el final de la gestación, en realidad son el resultado, principalmente, de cambios graduales que ocurren durante la preñez, principalmente en la responsividad uterina a las hormonas, y en el desarrollo de la glándula mamaria (junto con la síntesis de leche) estimulada hormonalmente. La conducta maternal aparece rápidamente en el parto, sin embargo los estudios han demostrado que la responsividad maternal también se desarrolla gradualmente durante la preñez (Rosenblatt y col., 1979; 1983).

Las primeras investigaciones de la conducta maternal en la rata no estuvieron orientadas desde el punto de vista fisiológico, más bien el acarreo y la construcción del nido se estudiaron como adaptaciones, que aseguraban que la cría podía crecer dentro de un nido protector ante condiciones ambientales eventualmente peligrosas.

Posiblemente el primer estudio de conducta maternal orientado fisiológicamente fue el de Stone (1925) (citado por Numan, 1994), quien investigó las conexiones causales entre la conducta maternal y las hormonas de la preñez. Este temprano intento (fallido por cierto) de estimular la aparición de la conducta maternal en una hembra no preñada y ciclando, se ejecutó poniendo a estas hembras en parabiosis con una hembra preñada. Esta relación "bioconductual" fue hecha explícita por Weisner y Sheard (citado por Rosenblatt, 1990), quienes notaron que la aparición de la conducta maternal se sincronizaba con la aparición del parto y la lactancia. Conociéndose que estos dependían de las hormonas de la preñez, se interpretó que esta sincronía implicaba, que quizás la conducta maternal también estaba basada en estas hormonas. Esta idea guió la investigación de los subsecuentes estudios de las bases hormonales de la conducta maternal.

En ratones y hámsters, la construcción del nido, un importante componente de la conducta maternal, se inicia poco después de la concepción, al tiempo que los estrógenos en

la circulación declinan y la progesterona se incrementa (McCormack y Greenwald, 1974) Este periodo temprano de la preñez es donde la conducta maternal se ha observado, y en los ratones su aparición se ha unido causalmente con la acción sinérgica de la progesterona y los estrógenos (Koller, 1955, citado por Rosenblatt, 1990; Lisk, 1971, 1969). En el conejo, la construcción del nido normalmente aparece rápidamente antes del parto, y se ha asociado con la pérdida de pelo y su extracción (pulling), siendo el pelo incorporado al nido para formar una cama suave (Ross y col., 1963).

La propensión para la construcción del nido hacia el final de la preñez en respuesta a cambios hormonales, también se desarrolla gradualmente durante la preñez. Zarrow y sus colegas terminaron gestaciones prematuramente ovariectomizando hembras o tratándolas con estrógenos. Ellos observaron que solamente cuando la preñez fue interrumpida después de 13 días en la cepa Dutch-belted, y después de 22 días en la cepa Gray chinchilla, las conejas iniciaron la construcción del nido. El tratamiento con estrógenos y progesterona en conejas ovariectomizadas también resultó efectivo; cuando se administraron a los 13 ó 22 días, se estimuló la construcción materna del nido (Zarrow y col., 1962, 1971).

En casi todas las especies que han sido estudiadas, la descripción de que la responsividad materna se desarrolla durante la preñez, pone a prueba la temprana creencia de que la preñez es un periodo conductual silente. Así, surgieron preguntas acerca de la correspondiente idea de si la conducta maternal, de corta latencia, podría ser provocada solamente cuando las hembras habían comenzado a parir sus crías. ¿Como es que el comienzo de la conducta maternal está tan cercanamente relacionada con el nacimiento de la cría? ¿Está su aparición endógenamente regulada tanto como para coincidir con el nacimiento de la cría, o es dependiente de la estimulación recibida antes del parto o desde la cría durante el parto? ¿Podría ser una regulación de continuidades endógenas y dependencias de la estimulación asociada con el parto, lo que hace capaz la aparición de la conducta maternal en coordinación con la salida de la cría? (Rosenblatt, 1990).

Investigadores describiendo la CM llegaron a la conclusión que la responsividad maternal comienza en el parto. Sin embargo esto no se sostuvo cuando comenzaron, en aquellas especies que exhiben defensa del nido, a presentar crías recién nacidas ante hembras

a diferentes intervalos antes del parto, observándose que ellas exhibían conducta maternal hacia las crías.

En todas las especies de roedores que han sido estudiadas, así como en el conejo y la oveja, las hembras exhiben más conducta maternal durante la preñez tardía que en la temprana, ciertas respuestas aparecen inmediatamente cuando a las hembras se les presentan crías recién nacidas (Poindron y col., 1980; Rosenblatt, 1975). Distintos componentes se presentan primero en las diferentes especies: en el gerbo, la construcción del nido aparece y el canibalismo declina previo al parto; las hembras hámster muestran todos los componentes de la conducta maternal, incluyendo el acarreo, adoptan la posición del "nursing" y desaparece la matanza de las crías; en la oveja, la futura madre tolera y acepta los acercamientos de la cría y emite vocalizaciones bajas, evidenciando su responsividad maternal (Rosenblatt, 1990).

En la rata todos los componentes de la conducta maternal pueden provocarse comenzando a las 24 ó 34 hr antes del parto (McCarthy y col., 1986). Esto incluye las conductas descritas anteriormente para el hámster, además de la defensa del nido, la respuesta de aproximación ante olor del nido y la respuesta ante el chillido de crías escondidas (Dunbar y col., 1981; Koranyi y col., 1976). Sin embargo, las ratas que no muestran conducta maternal o defensa del nido tempranamente, cambian rápidamente su conducta y se vuelven maternas alrededor de las 3.5 hr antes del comienzo del parto. Tal conducta ha sido correlacionada con la aparición de contracciones uterinas vigorosas y regulares, que son el preludio del parto (Mayer y col., 1983).

5.1 Sensibilización

En condiciones de laboratorio, la respuesta inicial de las ratas hembras vírgenes, expuestas ante crías de congéneres, es la evitación, el infanticidio o la conducta parental. La respuesta de evitación puede variar entre las distintas cepas de laboratorio (Rosenblatt, 1990).

No obstante lo anterior, las hembras no preñadas pueden ser inducidas a presentar conducta maternal por una continua exposición a crías, un proceso que ha sido llamado

tanto "sensibilización", "concaveación", o "inducción de la cría" (Cosnier y col., 1981; Rosenblatt, 1967; Wiesner y col., 1933, citado por Rosenblatt, 1990). Si bien las hembras vírgenes muestran inicialmente pocas o ninguna respuesta hacia las crías, la cohabitación diaria con ellas, las llevará eventualmente a ejecutar conductas maternas como el acarreo de crías, adoptar la postura de amamantamiento (sin lactar a las crías), construcción del nido y lamido anogenital hacia las crías (Fleming y Rosenblatt, 1974). Las latencias a la sensibilización van de dos a cuatro días en hembras confinadas a cajas pequeñas, y de cuatro a siete días en hembras viviendo en cajas grandes. Las diferentes cepas difieren en este aspecto, algunas quizá requieran largos periodos para su sensibilización (Jakobowsky, 1985; Terkel y col., 1971).

Cuando el fenómeno de sensibilización fue descubierto (Cosnier y col., 1981; Rosenblatt, 1967), se propuso que la exposición de crías ante hembras incrementaba día a día la responsividad hacia ellas, hasta alcanzar un cierto umbral de responsividad para provocar la respuesta maternal de la hembra. Así entonces los procesos motivacionales subyacentes a esta expresión conductual, se creían similares a los involucrados en la estimulación sexual, que es aún conceptualizada como un incremento de motivación promovido por la estimulación hormonal, para alcanzar un nivel umbral y entonces se presenta la conducta sexual.

Desde otra perspectiva, se ha postulado que existen procesos inhibitorios que deprimen la responsividad maternal en hembras vírgenes. Proponiéndose que los eventos neuroendócrinos asociados con la gestación y el parto promueven el sobrepasar esta inhibición, observándose entonces una inmediata responsividad maternal. Ahora bien si estos cambios ocurren antes del parto uno sería capaz de observar cambios en la responsividad maternal durante la gestación (Numam, 1994).

En este sentido Slotnick y col., 1973, probaron la responsividad maternal de hembras nulíparas preñadas (días de gestación 12, 14, 16, 18, 20, 21 y 22 días del parto). Las crías de prueba sólo permanecieron 6 min con la hembra. Los resultados mostraron que en el día esperado para el parto -22-, 5 de 11 hembras acarrearón a sus crías. Estos hallazgos, confirmados más tarde por Mayer y Rosenblatt, sugerían que alrededor del parto algún

evento podía estar asociado a la aparición de la responsividad maternal. Particularmente, como ya se refirió, se pensó en el inicio de las contracciones uterinas (Mayer y Rosenblatt, 1984).

Fleming and Rosenblatt, 1974 y Reisnick 1975, compararon la conducta maternal de hembras vírgenes sensibilizadas con la de hembras primíparas en postparto. El proceso de sensibilización en las primeras se realizó, simulando la lactancia normal. Esto es, poniendo crias de edades progresivas. Los resultados mostraron que había una similitud en la temporalidad y frecuencia de la CM entre los grupos.

En contraste con este estudio, otros autores han encontrado diferencias significativas en la expresión de la CM entre hembras sensibilizadas y lactantes. En adición a la descripción del acarreo en las cajas de crianza o cohabitación, estos estudios han contemplado el análisis del acarreo de las crias en laberintos de brazos elevados pegados a las cajas de crianza. Tanto en ratas como en ratones, las hembras vírgenes sensibilizadas mostraron disminución del acarreo de crias colocadas en el laberinto. Lo anterior indica que el miedo producido por el ambiente novedoso interfiere con la ejecución del acarreo en las hembras sensibilizadas pero no en las madres postparto (Numan, 1994).

Así, la disponibilidad emocional de la madre lactante para tomar riesgos en el cuidado de sus crias, es mayor que en aquellas que son maternales después de un periodo de sensibilización, sugiriéndose entonces que los eventos fisiológicos asociados a la preñez tardía más los de la lactancia, los que inducen en la madre lactante una mayor capacidad maternal. (Numan, 1994).

Desde una similar perspectiva, diversos estudios han abordado el papel de los factores endocrinos que pudieran jugar un papel importante en la CM inducida en aquellas hembras vírgenes expuestas continuamente a crias. Rosenblatt, 1967, analizó la sensibilización de hembras vírgenes intactas, ciclando, ovariectomizadas o hipofisectomizadas. Las latencias para registrar la aparición del acarreo fueron similares en estos grupos (de 5 a 7 días), lo que llevó a concluir que existe un nivel básico de responsividad maternal en las ratas y que no depende de la estimulación maternal.

Analizando el nivel o intensidad de la CM bajo las condiciones anteriores otros grupos han mostrado que las hembras ciclando muestran un nivel más alto de CM: construyen nidos más grandes y compactos, acarrear más rápido a las crías, se echan sobre la camada más tiempo y tienden a ejecutar el acarreo aún ante ambientes novedosos y extraños (Numan, 1994).

De lo anterior se ha concluido que el nivel de responsividad maternal es mayor en ratas lactantes postparto, intermedio en hembras vírgenes intactas sensibilizadas y bajo en vírgenes ovariectomizadas sensibilizadas.

Desde el punto de vista hormonal, varios estudios han mostrado que una gran proporción de hembras vírgenes sensibilizadas muestran un incremento en la liberación de prolactina desde la hipófisis anterior una vez que han comenzado a mostrar conducta maternal (Jakubowski y Terkel, 1980; Koranyi y col., 1977; Marinari y Moltz, 1978) Este incremento parece ser la resultante de la estimulación ventral dada por las crías cuando las hembras vírgenes se echan sobre de ellas. En este sentido el estímulo asociado a la succión de las crías se descarta, ya que el aumento de liberación de prolactina se observa aún después de la telectomía de hembras vírgenes. Toda vez que el cambio en las concentraciones de prolactina ocurre después de la aparición de la CM, la emergencia de la prolactina no participaría en la aparición de la CM. Estudios recientes han indicado que quizás, también incrementos en los niveles neurohipofisarios de oxitocina ocurren en hembras vírgenes sensibilizadas (Salm y col., 1985).

Por su parte, los estudios del papel de la olfacción en el proceso de la sensibilización hicieron necesario el cambio del concepto de conducta maternal. El hallazgo más importante en este aspecto fue que las hembras que eran hechas anósmicas mediante el lavado nasal con sulfato de zinc, o en las cuales se practicó la sección bilateral del nervio olfatorio, se hicieron altamente responsivas a las crías casi inmediatamente, y casi todas mostraron conducta maternal durante el primer día de exposición a las crías (Fleming y col., 1974a; 1974b). En lugar de retardarse la aparición de la conducta maternal, como se esperaría si los estímulos olfatorios de las crías promovieran la responsividad maternal, las hembras anósmicas aceleraron la aparición de su conducta maternal.

A partir de estos hallazgos se postuló que el retardo en la aparición de la conducta maternal, en hembras no preñadas bajo sensibilización, es debido a la necesidad que estas hembras tienen de vencer sus respuestas aversivas hacia las crías. Las respuestas aversivas en hembras no preñadas ante la presencia de crías puede ser observada: se acercan a las crías con curiosidad, las huelen y retroceden, cerrando sus ojos, y generalmente cubriendo a las crías con el material del nido y permaneciendo distanciadas de ellas por largos periodos de tiempo, de 2 a 3 días (Numan, 1994).

Diversos grupos han propuesto que cuando la conducta maternal aparece durante la sensibilización, no es solamente porque un nivel de respuesta ha sido alcanzado, si no también por que un nivel de respuesta aversiva hacia el recién nacido ha declinado; esto es, tendencias conflictivas en la hembra han sido resueltas. La respuesta aversiva quizá esté basada en otros estímulos adicionales a la olfacción, y quizás consistan de miedo y timidez en relación al recién nacido (Fleming y col., 1981). Conforme las hembras son sensibilizadas y sobrepasan su timidez, pasan más tiempo en proximidad a las crías, frecuentemente en contacto con ellas, similarmente como lo hacen las parturientas.

La reducción del miedo en las madres lactantes, medido por el decremento de movilidad en respuesta a estímulos auditivos altos, puede incrementarse por el uso de antagonistas de la benzodiazepina; al parecer en este evento el neurotransmisor ácido gamma amino butírico (GABA) juega un papel importante en la reducción del miedo en las madres (Hansen y col., 1985; Hard y col., 1985).

La propuesta de que la conducta maternal surge en las ratas hembras después de que la respuesta de evitación de las crías se ha sobrepasado, incrementándose la respuesta de acercamiento, tiene implicaciones para el desarrollo de la conducta maternal y para sus bases neurales. En efecto, los componentes de la conducta maternal pueden ser fácilmente provocados en animales prepubertales, los patrones gradualmente se expresan de manera distinguible de las conductas de juego, mejor organizados y más completos que en su expresión temprana durante la pubertad (Brunelli y col., 1987). Sin embargo las latencias abruptamente se incrementan alrededor del día 23-24 de edad, y estos cambios en la conducta están correlacionados con el aumento del miedo, evidente en la respuesta a recién nacidos y en las pruebas a campo abierto (Bridges y col., 1974; Mayer y col., 1979).

Después de la pubertad, las respuestas aversivas a los olores de las crías aparecen, y las latencias a la sensibilización de los adultos son siempre mayores a las mostradas por los adolescentes que son menos miedosos

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La interferencia con el desarrollo del sistema nervioso de especies altriciales; privándolas del cuidado materno, del alimento, de adecuada estimulación sensorial o por alteraciones derivadas de aumentos o disminución de factores biofuncionales (hormonas, neurotóxicos, etc.) ha contribuido a entender los procesos de maduración conductual y orgánica en los mamíferos.

A través del análisis conductual, en el corto o largo plazo, se han obtenido importantes evidencias acerca de la manera como los estímulos nocivos afectan la estructura y funcionalidad del sistema nervioso. Nuestro grupo de investigación ha analizado de manera detallada los efectos a corto y largo plazo, de la desnutrición y de la acción neurotóxica de la Capsaicina en la ratas; particularmente una línea de nuestra investigación ha analizado la conducta maternal postparto, de hembras rehabilitadas nutricionalmente, después de ser desnutridas durante la lactancia. Ahora complementamos nuestros estudios analizando la conducta maternal en hembras vírgenes sometidas a los mismos tratamientos de desnutrición y rehabilitación nutricional.

En este mismo sentido y avanzando en nuestra línea de investigación sobre los efectos conductuales a largo plazo después de la administración neonatal de capsaicina, analizamos la expresión de la conducta maternal postparto.

Las contribuciones derivadas de los experimentos planteados en esta trabajo de investigación serán importantes para, a) conocer si la desnutrición produce déficits en la expresión de la conducta maternal por sensibilización, y si éstos son similares a los descritos para la conducta maternal postparto y, b) describir conductualmente, algo escasamente encontrado en la literatura, los efectos de la capsaicina sobre la ejecución de conductas fundamentales para la sobrevivencia de las especies, en este caso la conducta maternal postparto.

IV. HIPOTESIS

El empleo de tres maniobras experimentales: 1) la desnutrición durante la lactancia asociada a la privación de cuidados maternos y la privación sensorial (DxP), 2) la desnutrición durante la lactancia sin privación de cuidados maternos y sin privación sensorial (DxL) y 3) la administración de un neurotóxico como la capsaicina, nos lleva a plantear hipótesis particulares para cada experimento:

Experimento 1. En la rata hembra adulta, desnutrida neonatalmente, las alteraciones provocadas por la desnutrición, la privación de cuidados maternos y la privación sensorial, provocará deterioro en la conducta maternal provocada por sensibilización. Concurrentes a esta alteración registraremos alteraciones conductuales asociadas a incrementos en las respuestas emocionales de las hembras rehabilitadas nutricionalmente.

Experimento 2. En la rata adulta desnutrida neonatalmente, las alteraciones producidas por la privación de nutrimentos durante la lactancia, provocarán deterioros en la conducta maternal provocada por sensibilización. Cuando comparemos las ejecuciones maternas entre las hembras del Experimento 1 vs las hembras del Exp. 2 encontraremos que estas últimas tendrán un comportamiento menos errático y su conducta maternal estará menos alterada.

Experimento 3. La destrucción irreversible de fibras sensoriales y la asociada alteración funcional de los sistemas sensoriales, principalmente somatosensorial y de regulación de temperatura corporal, provocadas por la administración neonatal de capsaicina, alterará la ejecución de la conducta maternal postparto.

V. OBJETIVOS

V.I ESPECIFICOS

- 1- Describir la conducta maternal adulta provocada por la sensibilización con crias en hembras vírgenes adultas, desnutridas durante su lactancia utilizando el método de aislamiento de las crias de su madre y su consecuente privación de la succión de leche materna durante la lactancia.
2. Caracterizar la conducta maternal provocada por sensibilización con crias en hembras vírgenes adultas, desnutridas durante la lactancia al alternar su cuidado con madres intactas y madres con los conductos galactóforos obstruidos.
3. Describir la conducta maternal de hembras adultas postparto, tratadas neonatalmente con el neurotóxico capsaicina.

V.II GENERALES

1. Generar conocimiento acerca de las alteraciones a largo plazo en la conducta maternal como consecuencia de la desnutrición neonatal.
2. Al evaluar los efectos de la desnutrición en la conducta maternal, discernir la aportación de dos diferentes procedimientos de desnutrición; comparando los efectos provocados por desnutrición más privación del cuidado materno y desnutrición acompañada de cuidados maternos.
3. Contribuir al conocimiento de la probable participación de las fibras sensibles a capsaicina en la expresión de los diferentes patrones motores que se reconocen dentro de la conducta materna postparto.
4. Contribuir al conocimiento de los efectos a largo plazo provocados en diferentes ejecuciones conductuales en la vida adulta de animales neonatalmente tratados con el neurotóxico capsaicina.
5. Contribuir al conocimiento de cómo la alteración neonatal de la maduración y desarrollo del sistema nervioso afecta la expresión de conductas en la etapa adulta de especies altriciales.

VI. METODOLOGIA

Sujetos y condiciones generales de crianza

En todos los experimentos de la presente tesis se utilizaron ratas de la Cepa Wistar (*Rattus norvegicus*), provenientes de la colonia del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM y posteriormente mantenidas en la colonia del Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz.

Los animales fueron alojados en cuartos con temperatura de $24^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y ciclos de luz-obscuridad invertidos (12 x 12) (la luz se enciende a las 20:00 horas). Los animales se mantuvieron en cajas de acrílico transparente, que en su base contenían una cama de 5 cm de aserrín aproximadamente. La alimentación de los animales fue usando nutricubos (Purina chow) y agua electropura *ad lib*.

En todas las camadas el destete se realizó durante el día 22 postparto. En este día los animales separados y alojados por sexo se colocaron ($n= 5$) en cajas colectivas (35x27x17 cm) con libre acceso al alimento y al agua.

Sujetos

Las hembras adultas utilizadas en la prueba de sensibilización se obtuvieron de la cruce de hembras intactas alojadas en unidades reproductivas formadas por dos hembras y un macho. Las hembras preñadas ($n=12$) en estas unidades se removieron 2 a 3 días antes del parto y se colocaron en cajas de maternidad (35x27x17 cm).

El día del parto se señaló como el día cero de vida postnatal de las crías. En este día y provenientes de 12 madres diferentes se obtuvieron 145 crías (88 hembras y 57 machos) que después de mezclarse aleatoriamente fueron repartidos a las madres. Así, ocho camadas se constituyeron con 10 crías cada una (5 hembras y 5 machos) y las cuatro restantes quedaron formadas con 12 crías cada una (6 hembras y 6 machos). Esta redistribución de las camadas se realizó con la finalidad de reducir las posibles diferencias genéticas prenatales y/o biológicas entre las crías.

Las camadas 1 a la 4 (todas con una $n=10$) fueron asignadas a la desnutrición por ligadura de los conductos galactóforos de la madre. Su grupo control fue la camada 5 a la 8 ($n=10$, cada una). El grupo de desnutrición por privación de la succión fue asignado a las

hembras 9 y 10 (todas con una n=12), el grupo control para este procedimiento estuvo constituido por las camadas 11 y 12 (n=12 para cada una)

EXPERIMENTO 1. Ejecución de Conducta Maternal por sensibilización (S) de hembras desnutridas (DxP)

Animales Experimentales

La privación consistió en separar diariamente a la mitad de la camada de su madre y hermanos por periodos de 12 horas (0800-2000 hr) del día 01 al 21 postnatal (Periodo de desnutrición postnatal).

Durante la privación las crías separadas de su madre permanecieron en una incubadora a $27^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$. Al terminar el periodo de 12 horas de aislamiento las crías se regresaban al nido materno para su lactancia. Para su correcta identificación cada camada se marcó y enumeró usando colores inocuos diferentes. Después del destete (día 22) los animales tuvieron libre acceso al agua y alimento (periodo de rehabilitación nutricional*).

Animales control

Los grupos control de este procedimiento fueron animales criados todo el tiempo por la madre y solamente separados de ella el tiempo necesario para determinar el peso individual de la camada (aproximadamente 15 min).

En total de este procedimiento se obtuvieron 10 hembras experimentales y 12 hembras control. La curva de peso, del día 01 al 21, se obtuvo pesando a los animales cada vez que entraban a la incubadora. Después del destete, el peso se registró cada 10 días y hasta el día 90 de edad, día en el cual las hembras pasaron a la prueba de sensibilización de conducta maternal (**SCM**).

EXPERIMENTO 2. - Desnutrición por ligadura de los conductos galactóforos de las madres (DxL)

Animales Experimentales

En el día del parto las madres (n=4) seleccionadas para la cirugía de ligadura se separaron de sus crías y se anestesiaron por inhalación con éter etílico. Para realizar la ligadura de los conductos galactóforos se practicó una incisión pequeña (3 mm aproximadamente) sobre la piel de la base del pezón, sitio por el cual se introdujo una aguja curva pequeña. Esta maniobra se realizó con un nudo subcutáneo formado alrededor del conducto galactóforo principal, con hilo de seda (000 de grosor). Adicionalmente se suturó la piel de la base del pezón para cerrar la herida superficial ya referida. La oclusión de todos los pezones no duró más de 20 minutos. La madre una vez recuperada se colocó nuevamente con sus crías.

Durante la operación de la madre, las crías, que permanecieron aisladas, fueron calentadas artificialmente con una lámpara (60 Watts), que mantuvo el nido a una temperatura aproximada de 26 °C.

En las hembras control (n=4) únicamente se simuló la cirugía (se hace una incisión pequeña en la piel de la base del pezón y se sutura).

De tal modo que del día 01 al 21 postnatal, una hembra ligada y una no ligada se alternaron cada 12 horas para la crianza de dos camadas (etapa de desnutrición postnatal). Es decir una camada (A) tuvo, sin posibilidad de alimentarse, a una madre ligada durante la fase de luz (2000-0800 hr) a continuación esa misma camada tuvo una madre control durante la fase de oscuridad (0800-2000 hr), esto es, en esta fase las crías lactaron. Alternativamente otra camada (B), tuvo la falta de leche (la madre ligada) durante la fase de oscuridad (0800-2000) y la madre no ligada (que las lactó) durante la fase de luz.

A partir del día 22 las crías destetadas se agruparon por grupo y sexo para continuar su crecimiento teniendo libre acceso al agua y al alimento (etapa de rehabilitación nutricional*).

Animales Control

El grupo control para este procedimiento fueron camadas criadas por la alternancia cada 12 horas, de dos madres con cirugías simuladas

En total por esta maniobra se obtuvieron 15 hembras experimentales y 19 hembras control. La curva de peso, del día 01 al 21, se obtuvo en cada cambio de madre. Después del destete, el peso se registró cada 10 días y hasta el día 90 de edad. Día en el cual las hembras pasaron a la prueba de sensibilización de conducta maternal (**SCM**).

***C. Etapa de rehabilitación nutricional**

En todos los casos las camadas del presente estudio fueron destetadas en el día 22 de edad postnatal. En ese mismo día las crías fueron alojadas en grupos de cinco de acuerdo a su sexo y su tratamiento. A partir de este día el alojamiento de estos animales incluyó la disponibilidad *ad libitum* de alimento (Purina chow) y agua (etapa de rehabilitación nutricional). Bajo esta condición permanecieron los animales durante el resto de los estudios. Para su perfecto reconocimiento en la edad adulta los animales desnutridos y sus controles se marcaron, cada tercer día, con tinta inocua indeleble.

PRUEBA DE SENSIBILIZACION DE CONDUCTA MATERNAL (SCM)

REGISTRO DE LA SCM

Durante siete días continuos realizamos la prueba de SCM. La conducta de las hembras se registró dos veces al día (0900 y 1900 hr del observador).

Las hembras, de los grupos arriba descritos, ingresaron una hora antes del primer registro del día a un cuarto de observación sonoamortiguado, con ventilación y mantenido a $24^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$. Durante la prueba los animales estuvieron en sus cajas individuales teniendo siempre libre acceso al agua y alimento.

Día 1 de SMC (S_1) Al inicio de la prueba, a cada una de las hembras se les colocaron tres crías de 2 días de edad (generalmente de ambos sexos). Para los registros de las 1900 hr, de ese mismo día, únicamente se sacaban y reintroducían estas mismas crías, colocándolas siempre en el lado opuesto a donde se encontraron

Día 2 de SMC (S_2). Antes de realizar la primera sesión, se retiraron las crías de la prueba anterior y se colocaron crías frescas (crias intactas no utilizadas en ningún experimento) de 3 días de edad. En la sesión de las 1900 hr se realizó el mismo procedimiento descrito para S_1 .

Día 3 de SMC (S_3). Al principio de la sesión, se retiraron las crías de la prueba anterior y se colocaron crías frescas de 2 días de edad. Para las 1900 hr. realizamos el mismo procedimiento descrito para S_1 .

S_4 . Se realizó el mismo procedimiento de S_2 .

S_5 . Se realizó el mismo procedimiento de S_3 .

S_6 . Se realizó el mismo procedimiento de S_2 .

S_7 . Se realizó el mismo procedimiento de S_3 .

Una vez finalizado el registro (7 días), las hembras se regresaron al bioterio y se colocaron en cajas jumbo con libre acceso al agua y al alimento, hasta el día de su sacrificio.

Registro Conductual

Estrategia de muestreo de intervalo fijo

A partir de la introducción de las crías en las cajas de las hembras vírgenes, en la primera sesión de la mañana, o de su reacomodo en las sesiones siguientes, registramos durante 30 min. por sesión, cada 15 seg (120 registros en total) la ocurrencia de las conductas ejecutadas por las hembras hacia las crías, hacia el ambiente o hacia ellas mismas.

Conductas de las hembras dirigidas hacia las crías

Acarreo. Identificado cuando la hembra prende con su boca la región dorsal del cuello (nuca) de las crías para llevarla generalmente hacia el nido. De esta conducta, adicionalmente, registramos las latencias de su ocurrencia.

Aseo a las crías. Es el lamido de la hembra sobre alguna región del cuerpo de las crías

Enterrar a las crías. Con las patas traseras y apoyada con las delanteras, la hembra arroja hacia atrás el aserrín con la clara intención de cubrir a las crías.

Husmear a las crías. La hembra se aproxima a las crías y las olfatea, pero sin hacer contacto directo bucal con ellas.

Manipular a las crías. Es el contacto de la hembra con las crías utilizando sus extremidades anteriores moviéndolas de un lado a otro, incluso pudiéndola levantar del piso de la caja

Permanecer echada sobre las crías. Es el patrón ejecutado por las hembras para permanecer apoyando su superficie ventral sobre las crías, generalmente en esta posición no realiza ninguna otra actividad.

Conductas de las hembras dirigidas hacia el ambiente.

Escarbar. Apoyado en sus patas traseras y ligeramente inclinada, la hembra, con sus patas delanteras, arroja hacia los lados el aserrín.

Exploración vertical. Apoyada en sus patas traseras el cuerpo del animal permanece erguido. Las patas delanteras se apoyan en una pared lateral de la caja o permanecen en el aire sin apoyo. La cabeza se mueve frecuentemente hacia arriba y en ocasiones el claro movimiento de las vibrisas indica exploración del ambiente.

Exploración horizontal. Apoyada en sus cuatro patas el animal se desplaza. La cabeza puede permanecer dirigida hacia el frente y ligeramente inclinada moviéndose de un lado a otro o de arriba hacia abajo.

Husmear. Echada totalmente sobre la caja o bien apoyada sobre sus patas mientras permanece inmóvil, el animal mueve sólo la cabeza a los lados o hacia arriba olfateando el ambiente.

Quieto. Apoyada e inmóvil sobre sus cuatro patas o echada en el piso de la caja el animal permanece alejado de las crías.

Roer. Es el mordisqueo de trozos de alimento o aserrín, sujetándolos con las patas anteriores.

Conductas ejecutadas sobre el cuerpo de las hembras

Autoaseo. Se incluyeron las actividades del lamido, frotado o mordisqueo de las patas delanteras, la cabeza, el tronco, la región ventral o lateral del cuerpo, las patas traseras, los genitales o la cola de los animales.

Rascado. Apoyada sobre sus extremidades delanteras y una trasera, el animal frota vigorosa y repetidamente con una pata trasera la región lateral y dorsal de su cabeza. Esta acción repetitiva puede ser interrumpida para lamer la pata que utiliza para el frotamiento.

Obtención de la crías utilizadas para sensibilizar a las hembras vírgenes

Las crías empleadas para la prueba de sensibilización de las hembras vírgenes tanto experimentales como controles, se obtuvieron de hembras adultas intactas que fueron preñadas selectivamente y que sincronizadamente fueron pariendo con diferencias de dos o tres días. En el día 2 postparto a cada camada se le retiraron 6 crías que se utilizaron para la prueba SCM y en el día tres postparto se le retiraron las crías restantes. Las crías que salían de la caja de sensibilización se sacrificaron inmediatamente.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la evaluación de los resultados obtenidos en los puntajes de cada una de las conductas, se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para muestras repetidas de dos factores (tratamiento y edad), acompañada de una prueba post hoc de Tukey. De igual forma se analizaron los datos obtenidos del peso corporal (peso y edad). El análisis estadístico de la ocurrencia temporal del patrón maternal de acarreo se realizó utilizando la estimación estadística de Kaplan-Meier en el análisis de sobrevivencia.

La media y el error estándar utilizadas para realizar las gráficas, así como la significancia de las diferentes pruebas estadísticas se obtuvieron con el paquete GB-STAT 6.0 para Windows (Dynamic Microsystems). Los resultados obtenidos se graficaron utilizando el paquete SIGMA PLOT 1.01 para Windows (Jandel Scientific).

EXPERIMENTO 3. Ejecución de la conducta maternal de acarreo durante el postparto de hembras neonatalmente inyectadas con capsaicina

Sujetos

Las hembras adultas utilizadas en este experimento se obtuvieron de la cruce de unidades reproductivas formadas de dos hembras y un macho. Las hembras preñadas en estas unidades (n=10) se removieron 2-3 días antes del parto y se colocaron en cajas de maternidad (35x27x17 cm).

El día del parto se señaló como el día cero de vida postnatal de las crías. En este día y provenientes de 15 madres diferentes se obtuvieron 100 crías (48 hembras y 52 machos) que después de mezclarse aleatoriamente fueron repartidos a 7 madres. Así cuatro camadas quedaron formadas con 12 crías cada una (6 hembras y 6 machos), mientras que las tres restantes tuvieron 10 crías cada una (5 hembras y 5 machos). Esta redistribución de las camadas se realizó con la finalidad de minimizar las diferencias genéticas prenatales y/o biológicas entre las crías. Cinco de estas camadas fueron asignadas al grupo control

(inyectadas con el solvente) las cinco restantes fueron asignadas al grupo experimental (inyectadas con capsaicina disuelta en el solvente).

Tratamientos

A. Administración neonatal de capsaicina

Preparación de la Capsaicina (Cap)

Para su administración la Cap (Laboratorios Sigma, lote 10H7015) fue disuelta en una solución vehículo conteniendo 80% de solución salina al 0.9% (ABBO-Liter), 10% de etanol (Baker) y 10% de Tween 80 (Sigma). Estas sustancias, en el orden citado, se vertieron en un vaso de precipitado de 40 ml y a continuación se mezclaron por agitación magnética (aproximadamente 45 seg) hasta obtener una solución hialina.

Administración de la capsaicina

En el segundo día de vida de las camadas, los animales experimentales fueron inyectados subcutáneamente, en la región dorsal superior (cuello), con una dosis de 50 mg/kg. de Cap contenida en un volumen de 0.1 ml. La inyección se realizó utilizando una microjeringa Hamilton de 50 μ L.

Para su correcta identificación cada camada se marcó y numeró usando colores inocuos diferentes. Del día 01 al 21 postparto todas las crías de la camada fueron pesadas (09:30 hr). Los registros del peso después del destete se realizaron cada 10 días hasta el día en que las hembras adultas (90 días de edad) pasaron a formar unidades reproductoras y así obtener hembras preñadas para el registro de la conducta materna.

B. Administración neonatal de la solución vehículo

Preparación de la solución vehículo

Se disolvieron 10 ml de una solución conteniendo 80% de solución salina al .09% (ABBO-Liter), 10% de etanol (Baker) y 10% de Tween 80 (Sigma). Estas sustancias, en el orden citado se vertieron en un vaso de precipitado de 40 ml y se mezclaron por agitación magnética (aprox. 45 seg) hasta obtener una solución hialina.

Administración de la solución vehículo

Los animales control, bajo las mismas condiciones que los animales experimentales, fueron inyectados con 0.1 ml de la solución vehículo

REGISTRO DE CONDUCTA MATERNAL (CM)

Se registraron hembras adultas lactantes neonatalmente inyectadas con Cap (n=8) y hembras adultas control tratadas únicamente con el solvente (n=7) provenientes de los procedimientos anteriormente descritos.

Durante toda la lactancia (21 días) cada tercer día realizamos las pruebas de CM, la cual se registró en el periodo de oscuridad del ciclo (entre 1000 y 1200, hora del observador).

Las hembras de los grupos arriba descritos, ingresaron 30 minutos antes del registro a un cuarto de observación sonoamortiguado, con ventilación y mantenido a $24^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$. Las madres durante el registro siempre se mantuvieron en sus cajas de maternidad a las cuales se les había previamente removido el agua y el alimento, mismos que le fueron colocados nuevamente al final de la observación.

Las observaciones conductuales se realizaron teniendo luz tenue roja (40 watts) en el curato de observación.

PROCEDIMIENTOS PARA EL REGISTRO DE LA CM

Una vez transcurridos los 30 min de habituación al cuarto las crías eran removidas de la caja donde las cuidaba su madre. La maniobra era realizada cuidadosamente con el fin de evitar alteraciones en el nido construido por la madre. A continuación y durante 5 min se iniciaba un registro temporal cada 15 seg (20 registros en total) de la conducta de la madre sin las crías, aquí se reconocieron los patrones conductuales de:

(definidas previamente)

Autoaseo.

Escarbar.

Exploración vertical.

Exploración horizontal.

Husmeo.**Quieto.****Rascado.****Roer.**

Una vez terminado este registro se procedía a la evaluación de la CM de las hembras para registrar la conducta maternal de acarreo las crías se introdujeron individualmente. La cría, colocada siempre en el extremo opuesto a la ubicación de la madre, se depositaba ventralmente sobre la superficie del aserrín (generalmente la madre estaba ubicada en el sitio circundante al nido). Así entonces la cría era depositada alejada del nido. A partir de la colocación de la cría dentro de la caja, se registraban los siguientes parámetros.

Temporales

Latencia para acarrear a la cría: el tiempo registrado a partir de la introducción de la cría y hasta que la madre la tomaba con su hocico para transportarla. Si transcurrían 5 min y la cría no era acarreada se procedía a anotar el no acarreo y se procedía a colocar a la siguiente cría. En el caso contrario, una vez concluido el acarreo de la cría, se procedía a colocar la siguiente.

A partir del acarreo de la última cría (o en su caso después de transcurridos 5 min de no haber sido acarreada) se registraron otros 10 min de la actividad de la madre ya con todas las crías. Nuevamente, a través de un registro temporal, cada 15 segundos (40 registros en total en 10 minutos), identificamos la ocurrencia de las siguientes conductas ejecutadas por la madre:

Conductas de las hembras dirigidas hacia las crías:**(definidas previamente)****Acarreo.****Aseo a las crías.**

Enterrar a las crías.

Husmear a las crías.

Manipular a las crías.

Permanecer echada sobre las crías.

Conductas de la hembras dirigidas hacia el ambiente:

(definidas previamente).

Escarbar.

Exploración vertical.

Exploración horizontal.

Husmeo.

Quieto.

Roer.

Conductas de la hembras dirigidas hacia si mismas:

(definidas previamente)

Autoaseo.

Rascado.

Adicionalmente, durante estos 10 min registramos los siguientes parámetros en la relación madre-crias:

Temporales

Latencias para que la madre se eche sobre sus crías. Se anotó aquí el tiempo transcurrido desde el acarreo de la última cria hasta que la madre adoptaba la postura de echada sobre sus crías.

Tiempo total de la madre echada sobre sus crías. Registramos el tiempo total que la madre se mantuvo echada sobre sus crías (sumamos los tiempos parciales en caso de que la madre estuviera echada más de una vez).

Conductuales

Número de veces que la madre se echó sobre sus crías: se identificó y registró la ocurrencia de la postura de echada cada 15 seg.

ANALISIS ESTADISTICO.

Para la evaluación de los resultados obtenidos en los puntajes de cada una de las conducta entre los grupos, se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para muestras repetidas de dos factores (tratamiento y edad), acompañadas de una prueba post hoc de Tukey, de igual forma se analizaron los datos obtenidos del peso corporal (peso y edad).

La media y el error estándar, utilizados para realizar las gráficas, así como la significancia de las diferentes pruebas estadísticas se obtuvieron con el paquete GB-STAT 2.0 (Dinamyc Microsystems) y los resultados obtenidos se graficaron utilizando el paquete SIGMA PLOT 1.01 para Windows (Jandel Scientific).

VII. RESULTADOS Y DISCUSION.

EXPERIMENTO 1. Conducta Maternal inducida por sensibilización (S) de hembras adultas desnutridas durante la lactancia al separarlas de su madre (DxP)

Distribución de la curva de peso corporal Los registros del peso corporal mostrados en la Tabla 1.1 indican que los animales desnutridos desde el primer día del pesaje estuvieron por debajo de los valores mostrados por el control. El análisis de varianza de los datos obtuvo una $F(1,18)=2544.5$, $p<0.0001$ para el factor tratamiento, una $F(1,9)=6985.1$, $p<0.0001$ para el factor edad y una $F(1,9)=273.6$, $p<0.0001$ para la interacción entre los factores. Como resultado de lo anterior es claro que en los animales desnutridos no obstante la etapa de rehabilitación nutricional, nunca lograron la recuperación total de su peso corporal.

Aparición del primer acarreo Para analizar este evento conductual utilizamos la prueba estadística de Kaplan-Meier dentro del análisis de sobrevivencia. Los resultados obtenidos para la ocurrencia del primer acarreo en los grupos mostró diferencias significativas $g(1)=17.61$ $p<0.005$ para el registro de las 0900 horas. La gráfica superior de la figura 1.1 nos muestra que dos animales del grupo control acarrearón en el primer día de sensibilización, el resto de las hembras acarrearón entre los días S3 y S5 de la sensibilización. Por su parte, en el grupo de hembras neonatalmente desnutridas por privación (DxP), el primer acarreo se presenta en dos hembras en el día S5 de la sensibilización, cuatro hembras ejecutan su primer acarreo en el día S6 y una más acarrea en el día S7; para tres hembras experimentales DxP nunca obtuvimos registros de su acarreo

Cuando el análisis de la ocurrencia del primer acarreo se realiza con los datos obtenidos para el registro de las 1900 horas, encontramos que también existen diferencias significativas entre los grupos $g(1)=18.9$ $p<0.005$. La gráfica inferior de la figura 1.1 nos muestra que la ocurrencia del primer acarreo en cuatro hembras del grupo control se realizó en el primer día del registro, una hembra más acarreo el día S2, y las cinco restantes iniciaron el acarreo en el día S4. En el grupo experimental DxP el acarreo se inició en el día S5, día en el cual acarrearón cinco hembras, dos más iniciaron el acarreo para el día S6 y

Tabla 1.1**EXPERIMENTO 1 DxP.**

Peso corporal a lo largo de la lactancia y el crecimiento postnatal de las hembras.
(media ± error estándar)

Edad (días)	Control (n=10)	Experimentales (n=10)
5	12.5 ± .67	6.6 ± .3
10	24.7 ± .96	13.8 ± .5
20	44.2 ± 1.1	19.8 ± .8
30	96.4 ± 1.5	41.4 ± .8
40	164.8 ± 2.3	77.14 ± 1.8
50	240.9 ± 4.9	110.4 ± 1.9
60	285.9 ± 4.9	134.9 ± 1.6
70	307.3 ± 1.2	279.8 ± 3
80	330.6 ± 1.8	297.5 ± 4
90	360.3 ± 23.	323.5 ± 3.2

ANOVA. $F(1,18)=2544.5$ $p < 0.0001$ para el tratamiento; $F(1,9)=6985.1$ $p < 0.0001$ para la edad; $F(1,9)=273.6$ $p < 0.0001$ para la interacción.

Registro del primer acarreo D x P

- ◆ Control (n=10)
- Experimental (n=10)

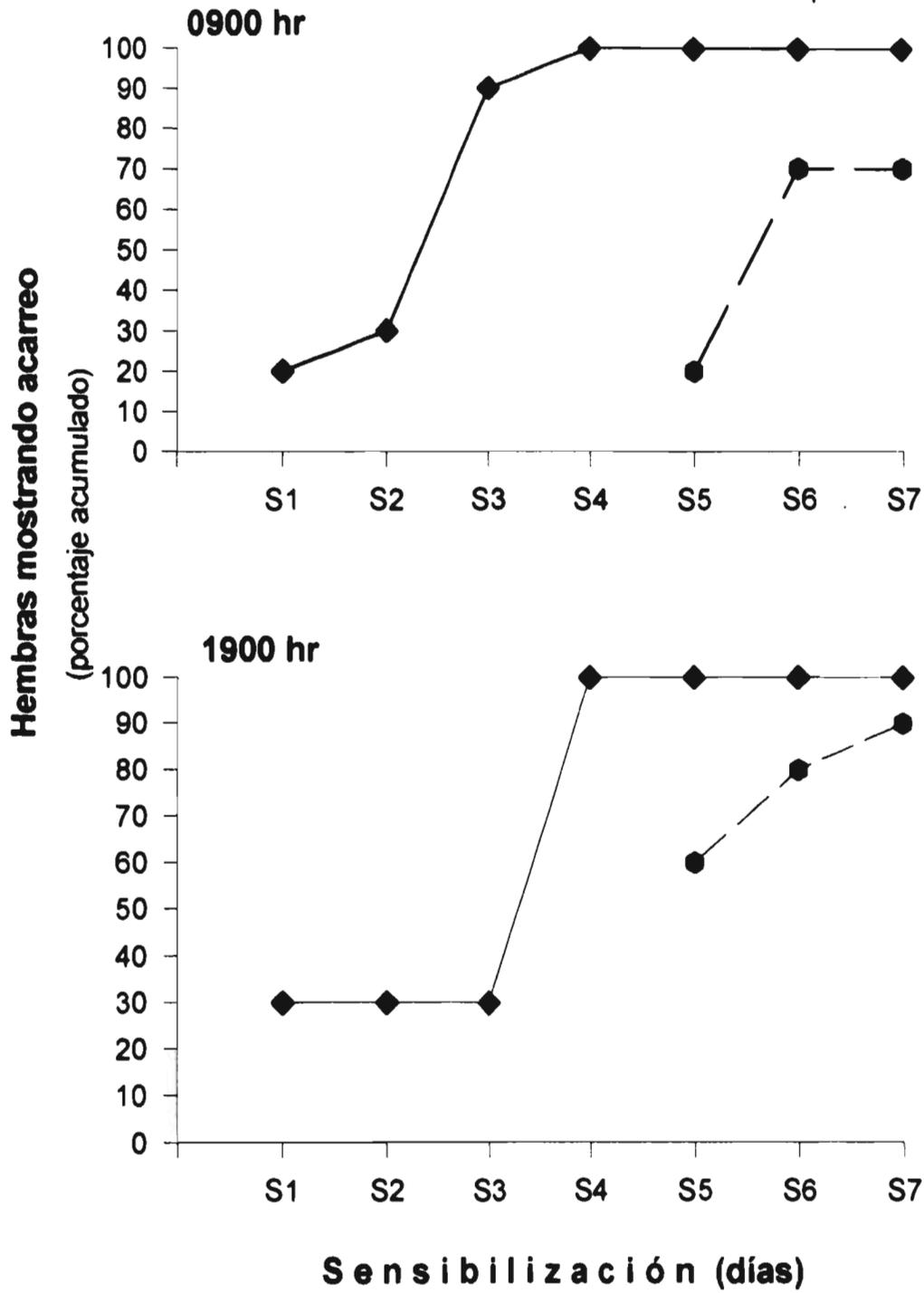


Figura 1.1

una más en el día S7. Sólo una hembra DxP no mostró acarreo durante las observaciones de las 1900 horas.

Acarreo de todas las crías en una misma observación. Los datos revelaron que, para las 0900 horas, en el grupo control este acarreo se inició en una hembra durante el día S3; dos hembras lo mostraron para el día S4; una más durante el día S5; cuatro durante el día S6 y la hembra control restante durante el último día de la prueba (día S7) (Figura 2.1 gráfica superior). En el grupo experimental DxP los registros indicaron que sólo en cuatro hembras registramos el acarreo de las tres crías en la misma sesión: tres hembras lo hicieron durante el día de sensibilización S6 y una más lo registró el día S7. De esta diferente distribución temporal del acarreo entre los grupos se obtuvo una diferencia estadística significativa $gl(1)=012.16, p<0.005$.

En este mismo evento conductual, pero ahora analizado para los registros obtenidos a las 1900 horas, obtuvimos diferencias significativas entre los grupos, $gl(1)=3.89 p<0.05$ (Figura 2.1 gráfica inferior). En el grupo control una hembra acarreo a todas sus crías en el día S1; tres más lo hicieron en el día S4; una más en el día S5; tres más en el día S6 y una más en el día S7, último día de registro; sólo en una hembra control no registramos el acarreo de todas las crías. En el grupo experimental, este acarreo se presentó hasta el día S5, cuando tres hembras lo realizaron; dos hembras lo realizaron durante el día S6; en cinco hembras del grupo experimental DxP no se registró la ocurrencia de este evento conductual.

Número de crías acarreadas. El análisis de varianza reveló que el factor asociado al tratamiento nutricional provocó diferencias en el número de crías acarreadas durante los registros de las 0900 horas, $F(1,18)=34.3 p<0.005$. Los valores obtenidos para el cálculo de la varianza asociada a la duración de la sensibilización fueron de $F(1,6)=37.7 p<0.005$, mientras que los valores resultantes de la interacción de los factores fueron de $F(1,6)=8.2 p<0.005$. La figura 3.1 nos muestra que, para las 0900 horas, en los días S4, S5, S6 y S7 las hembras control tenían promedios cercanos a tres en el número de crías acarreadas. En contraste en el grupo experimental DxP, los valores de este parámetro, sólo registrados a

Registro del acarreo a las 3 crías D x P

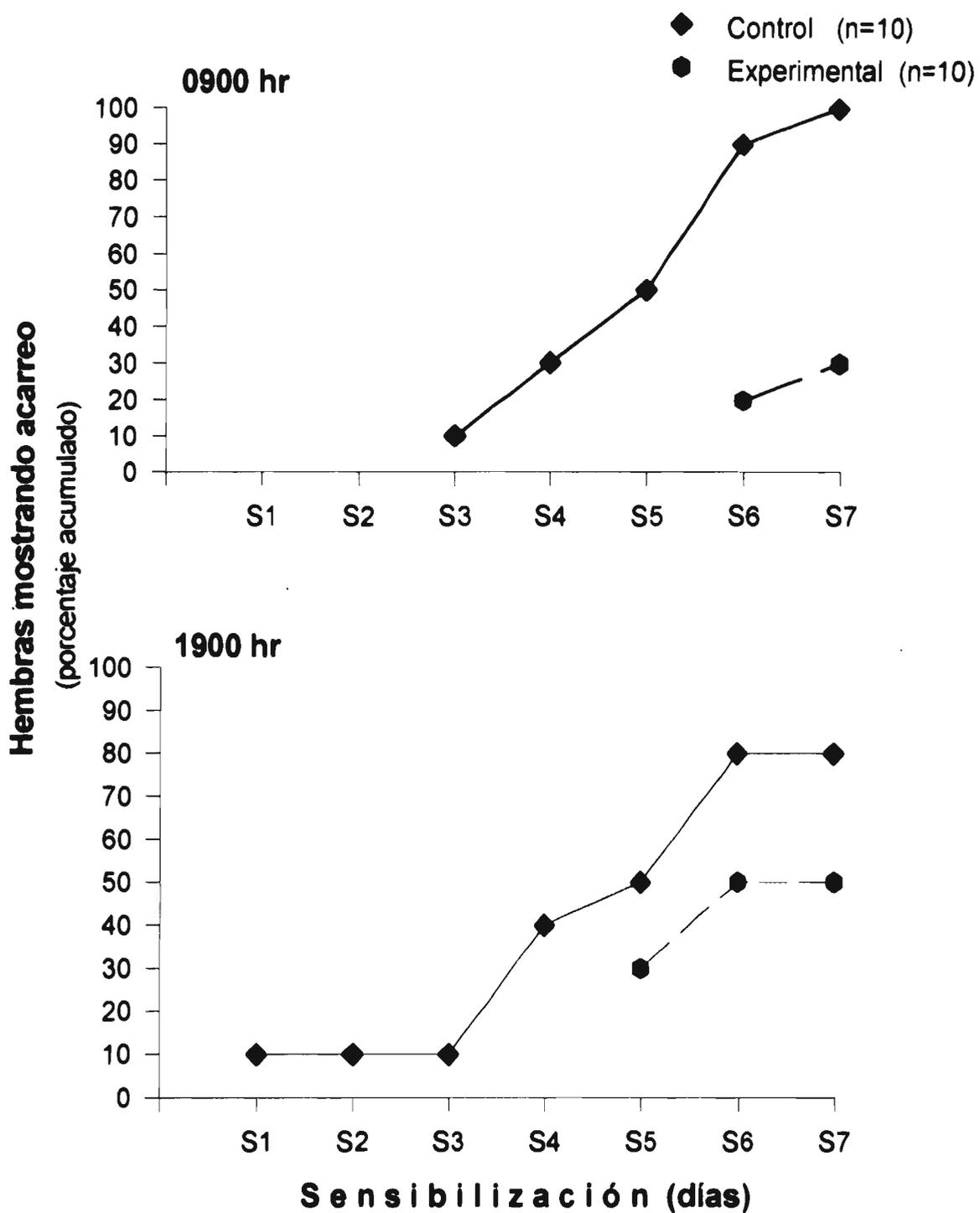


Figura 2.1

Crías acarreadas

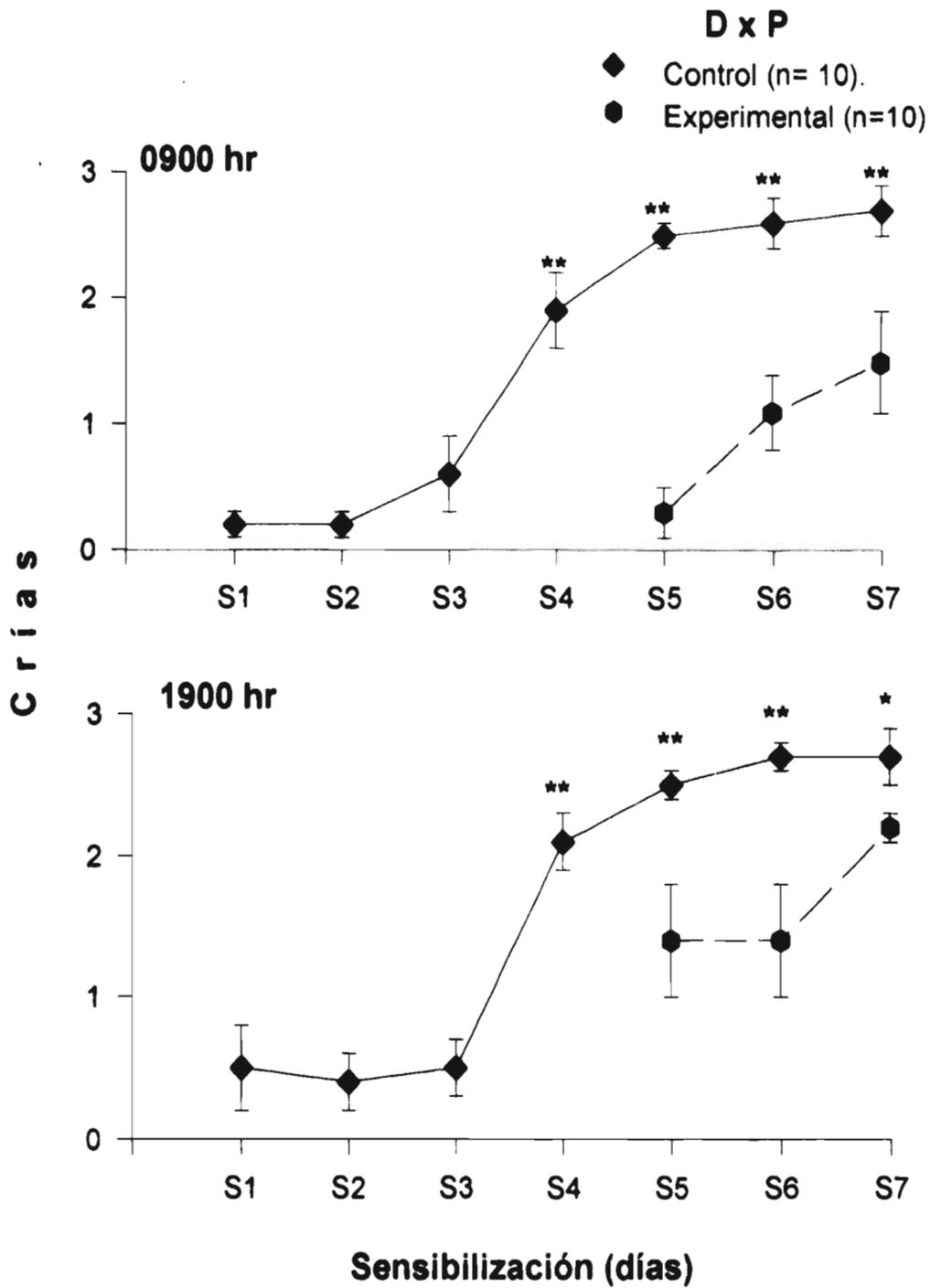


Figura 3.1

partir del día S5, permanecieron en números muy bajos para el resto del estudio. Los asteriscos de la gráfica indican que para los días S4, S5, S6 y S7 la significancia fue de $p < 0.01$ en cada caso (t de Fisher's).

Cuando analizamos el registro de las 1900 horas (figura 3.1, gráfica inferior) encontramos una distribución muy similar a la descrita en el párrafo anterior. Las hembras del grupo control a partir del día S4 tuvieron valores superiores a 2 en el número de crías acarreadas. En el grupo experimental DxP los valores, sólo registrados a partir del día S5, se mostraron menores al grupo control. Los análisis posteriores indicaron que las diferencias encontradas a las 1900 hr, se debieron a los días S4, S5 y S6 ($p < 0.01$, t de Fisher's) y S7 ($p > 0.05$, t de Fisher's) (asteriscos en la gráfica).

Latencias de acarreo. La figura 4.1 gráfica superior, nos muestra los valores de tiempo (segundos) para las latencias de acarreo en el registro de las 0900 hr. Encontramos que los valores de las hembras control fueron muy bajos. En contraste el acarreo de las hembras experimentales se registró más tardíamente. De esta distribución temporal se obtienen diferencias significativas asociadas al factor nutricional $F(1,58)=3.93$ $p < 0.05$, al factor duración de la sensibilización $F(1,6)=6.06$ $p < 0.005$ y a la interacción entre ambos $F(1,6)=9.3$ $p < 0.005$. Los asteriscos de la gráfica indican que para los días S6 y S7 se obtuvo una $p < 0.01$ (t de Fisher's).

En esa misma figura pero en la gráfica inferior, observamos la distribución de las latencias de acarreo en los registros de las 1900 hr. Observamos una distribución similar a la anterior en el grupo control. En el grupo experimental DxP las latencias que se registraron en el día 5 se incrementaron progresivamente en los días S6 y S7, llegando a alcanzar valores de hasta 600 segundos para realizar el acarreo. Los valores del ANOVA para el factor nutricional fueron de $F(1,58)=20.7$ $p < 0.005$, para el factor de duración de la sensibilización se obtuvo una $F(1,6)=12.5$ $p < 0.005$, mientras que la interacción obtuvo una $F(1,6)=16.8$ $p < 0.005$. Los asteriscos de la gráfica ilustran que para los días S6 y S7 se obtuvieron significancias de $p < 0.01$ y para S5 $p < 0.05$ (t de Fisher's).

Latencias de acarreo

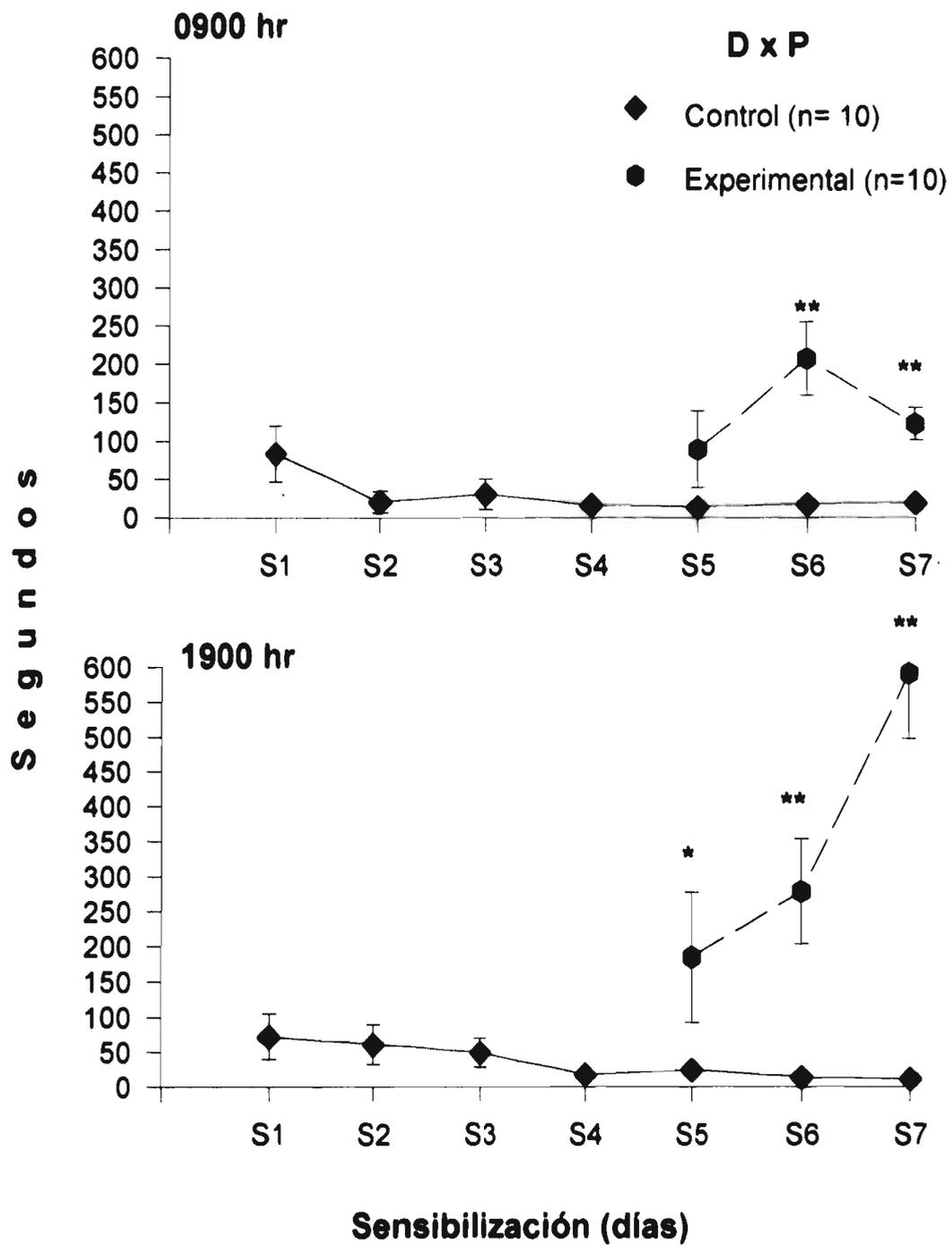


Figura 4.1

Aseo de las crías. Encontramos que, durante el registro de las 0900 horas, figura 5.1 gráfica superior, los valores estadísticos asociados al factor nutricional fueron de $F(1,18)=6.11$ $p<0.05$. Los valores para la duración de la sensibilización fueron de $F(1,6)=9.5$ $p<0.005$, mientras que los valores para la interacción fueron de $F(1,6)=1.26$ $p=0.27$ (ns, no significativa). El análisis posterior asignó las significancias para el día S4 ($p<0.01$, t de Fisher's). Observamos que las frecuencias del aseo hacia las crías, en las hembras control, se incrementó en el día S4, permaneciendo así su registro para el resto del estudio. Mientras que las frecuencias del grupo de desnutrición DxP permanecieron muy bajas mostrando un ligero incremento sólo hacia el final del estudio.

En el registro de las 1900 horas (figura 5.1 gráfica inferior) se obtuvo para el factor nutricional una $F(1,18)=7.9$ $p<0.05$; para el factor asociado a los días de sensibilización fue de $F(1,6)=25.3$ $p<0.005$, mientras que para la interacción se obtuvo una $F(1,6)=2.2$ $p<0.05$. La distribución de los valores del grupo control, en contraste al registro de las 0900 horas, son ahora más bajos en el día S5 ($P<0.05$) y S6. ($p<0.05$, t de Fisher's).

Echada sobre las crías. En la figura 6.1 mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=6.35$ $p=0.02$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=21.4$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=1.60$ $p=0.15$ (ns) para la interacción. Observamos en la gráfica que si bien los valores del grupo control siempre fueron mayores al DxP en general la tendencia es la misma.

Cuando observamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas notamos que, si bien la tendencia se mantiene, ahora el factor nutricional tiene una $F(1,18)=21.9$ $p<0.005$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=42.5$ $p<0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=4.2$ $p<0.005$. Los asteriscos indican que los valores del grupo control estuvieron significativamente más elevados para los días S5, S6 y S7 ($p<0.01$, t de Fisher's).

Aseo a las crías

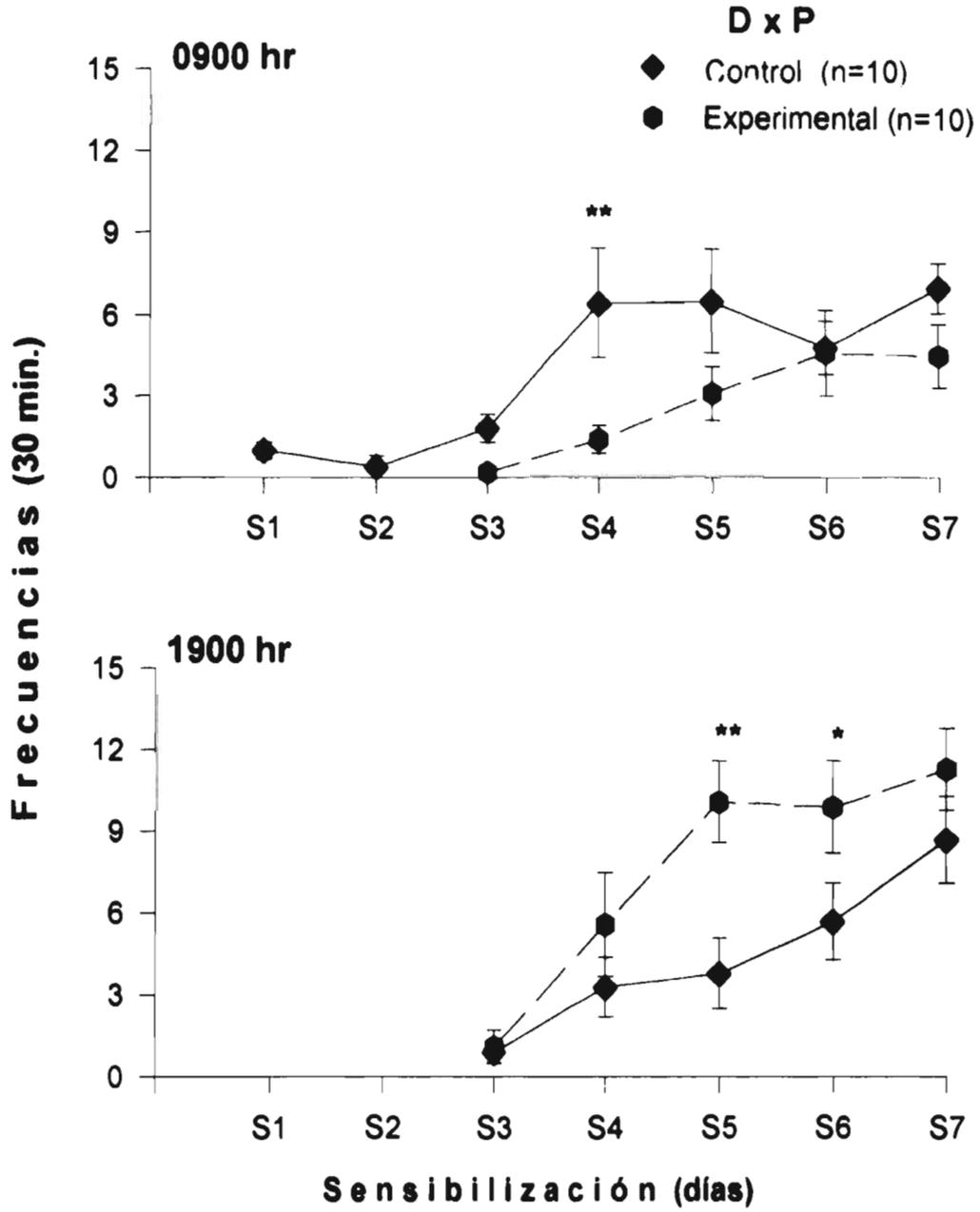


Figura 5.1

Echada sobre las crías

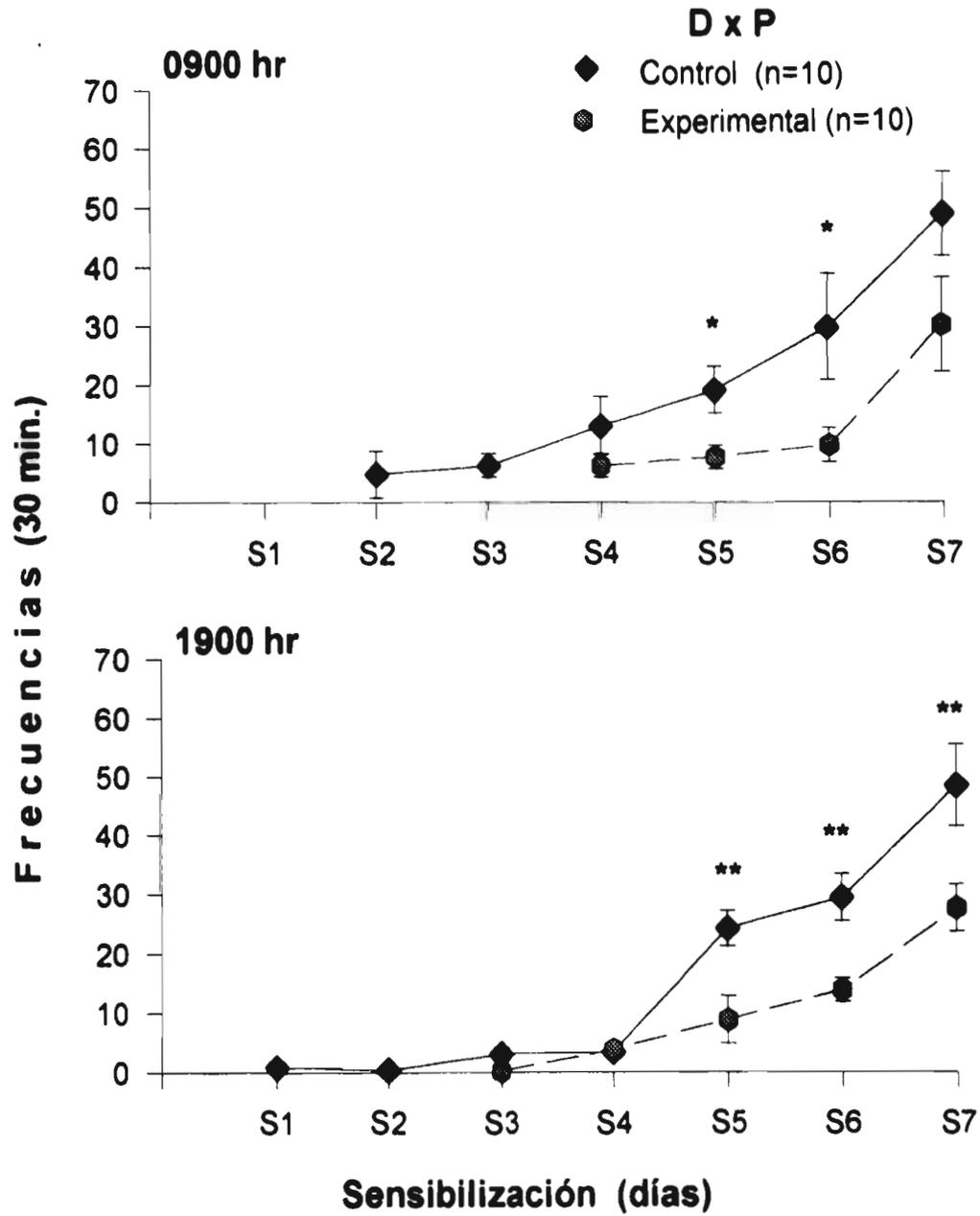


Figura 6.1

Enterrar a las crías. En la figura 7.1, parte superior, mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=19.5$ $p<0.005$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=21.6$ $p=0.05$ (ns) para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=3$ $p<0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica que en general las frecuencias son muy bajas, y que se elevan significativamente en el grupo experimental para los días S2 y S4 ($p<0.01$) y S5 ($p<0.05$, t de Fisher's).

Cuando analizamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas notamos que el factor nutricional tiene una $F(1,18)=9.3$ $p<0.05$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=3.5$ $p<0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=41.8$ $p=0.09$ (ns). Los asteriscos indican que los valores del grupo experimental estuvieron significativamente más elevados para los días S1 y S6 ($p<0.05$, t de Fisher's).

Husmear a las crías. En la figura 8.1 mostramos la distribución de las frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=28.3$ $p<0.005$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=1.19$ $p=0.31$ (ns) para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=8.29$ $p<0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica que a partir del día S4 las frecuencias del grupo experimental DxP se elevan significativamente para los días S4, S5, S6 y S7 ($p<0.01$, t de Fisher's).

El análisis de la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, mostró que el factor nutricional tiene una $F(1,18)=2.01$ $p=.172$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=1.41$ $p=.215$ (ns), mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=24$ $p=0.05$, (gráfica no incluida).

Manipular a las crías. En la gráfica superior de la figura 9.1 mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=2.7$ $p=.116$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=3.10$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=4.21$ $p<0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias del grupo control se elevan significativamente para los días

Enterrar a las crías

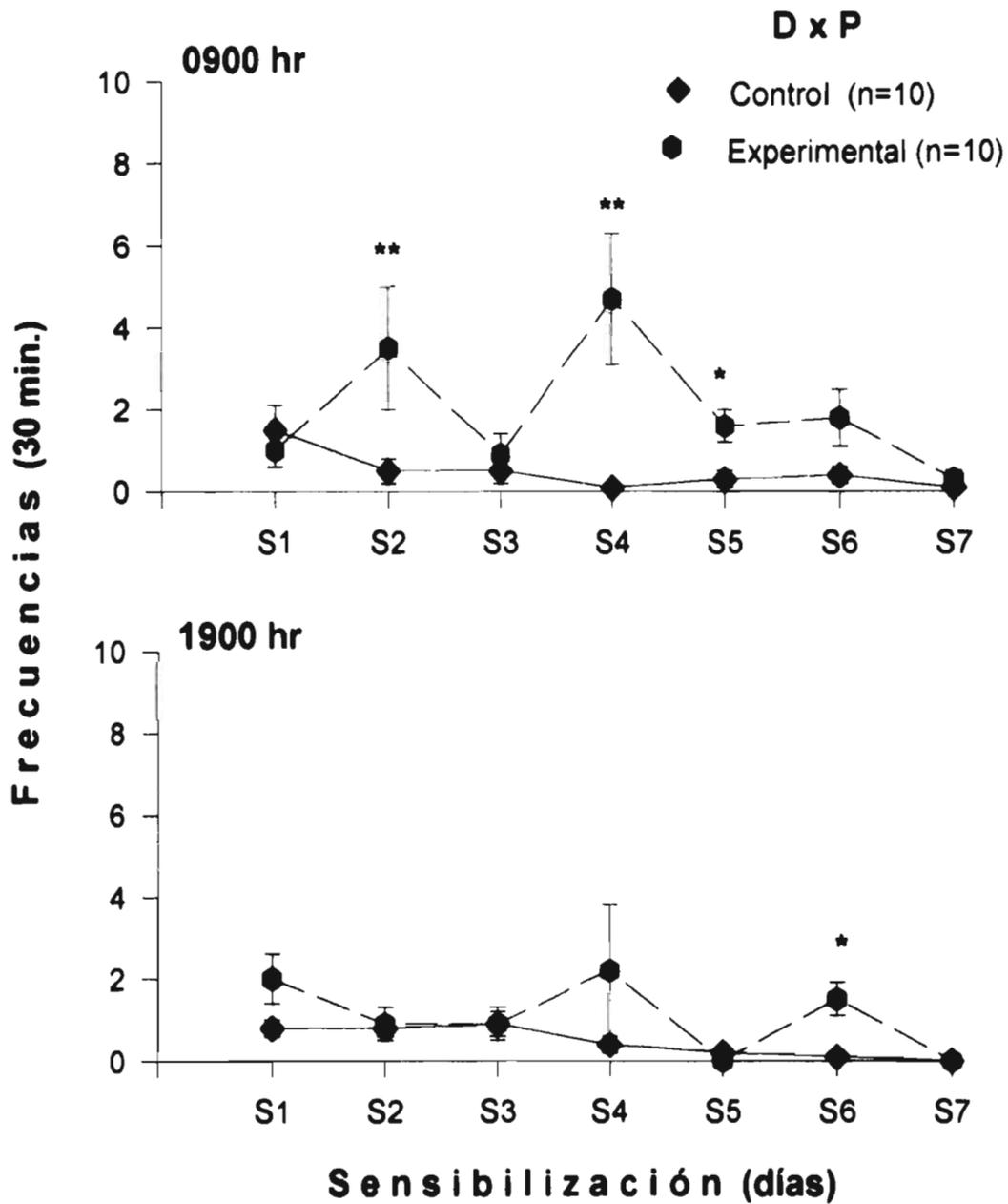


Figura 7.1

Husmear a las crías

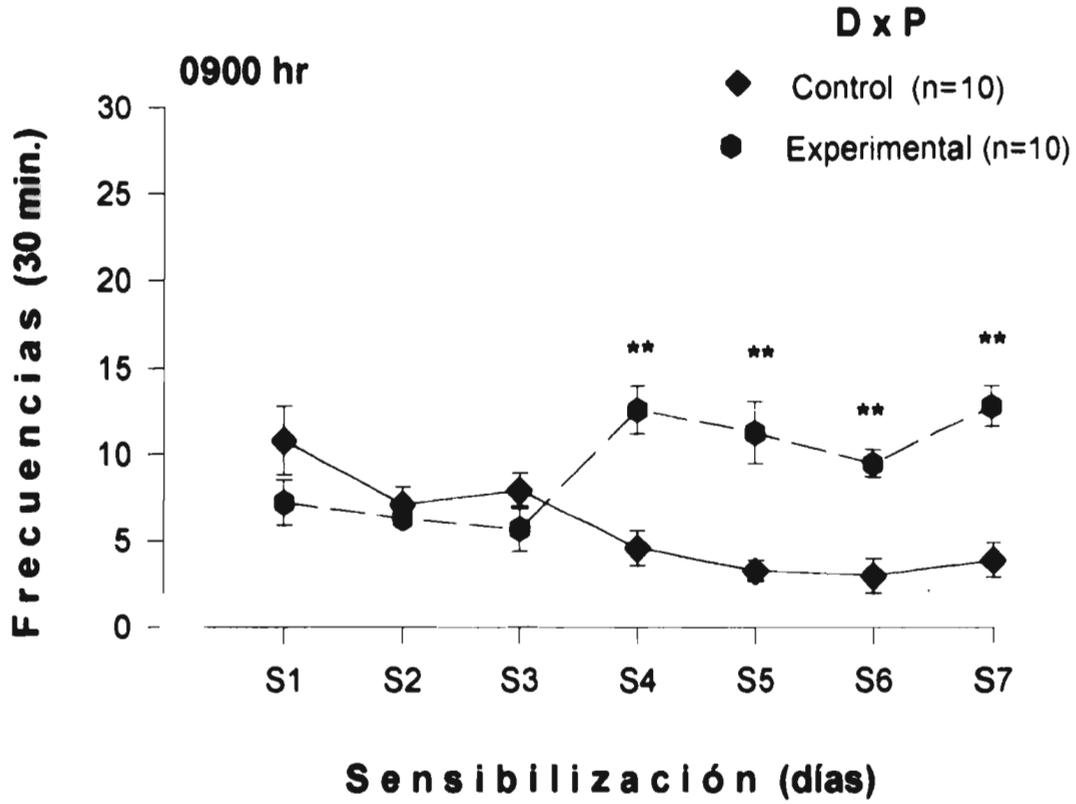


Figura 8.1

Manipular a las crías

D x P

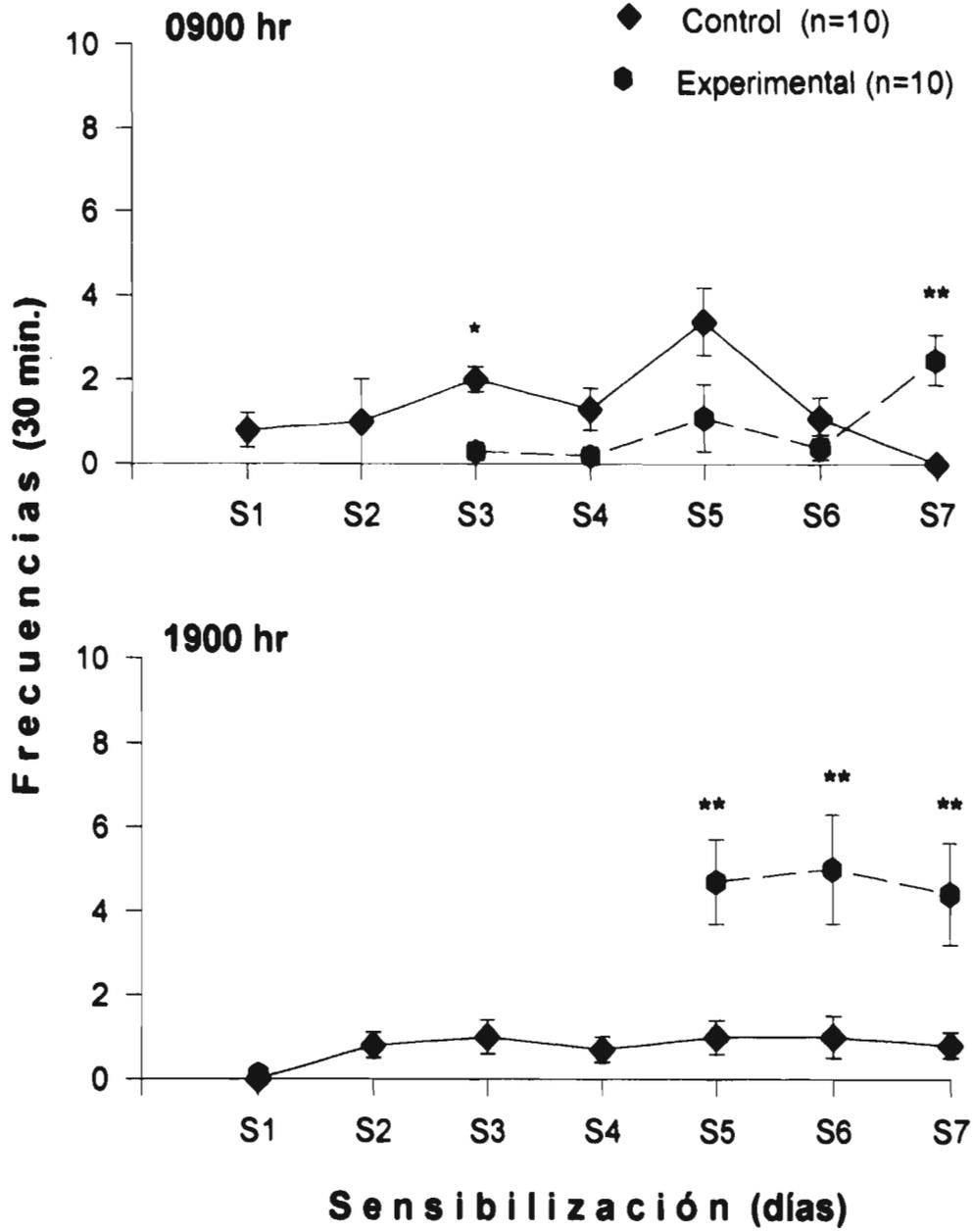


Figura 9.1

S3 y S5 ($p < 0.05$, t de Fisher's). Por su parte las frecuencias del grupo experimental DxP se incrementaron en el día S7 ($p < 0.05$, t de Fisher's).

Cuando analizamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas notamos una distribución muy diferente a la descrita para las 0900 horas. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=6.5$ $p < 0.05$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=10.7$ $p < 0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=8.28$ $p < 0.005$. Los asteriscos indican que los valores del grupo experimental DxP estuvieron significativamente más elevados para los días S5, S6 y S7 ($p < 0.01$, t de Fisher's).

Escarbar. Para los escasos registros de las 0900 hr, el ANOVA describió una $F(1,18)=74$ $p=.39$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=3.44$ $p < 0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=1.51$ $p=.181$ (ns) para la interacción (gráfica no incluida)

Cuando analizamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas notamos una distribución muy similar a la descrita para las 0900 horas. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=.02$ $p=.88$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=1.4$ $p=.4$ (ns) mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=3.4$ $p < 0.005$, (gráfica no incluida).

Exploración horizontal. En la gráfica superior de la figura 10.1 mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=7.1$ $p < 0.05$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=2.6$ $p < 0.05$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=3.01$ $p < 0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica, que no obstante las bajas frecuencias registradas en ambos grupos a lo largo de la sensibilización, para el día S6 los valores del grupo DxP fueron significativamente mayores que su control. ($p < 0.05$, t de Fisher's).

La distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas se ilustran en el panel inferior de la misma figura 10.1. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=12.02$ $p < 0.005$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=5.5$ $p < 0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=35.8$ $p < 0.005$. Los asteriscos indican que los

Exploración Horizontal

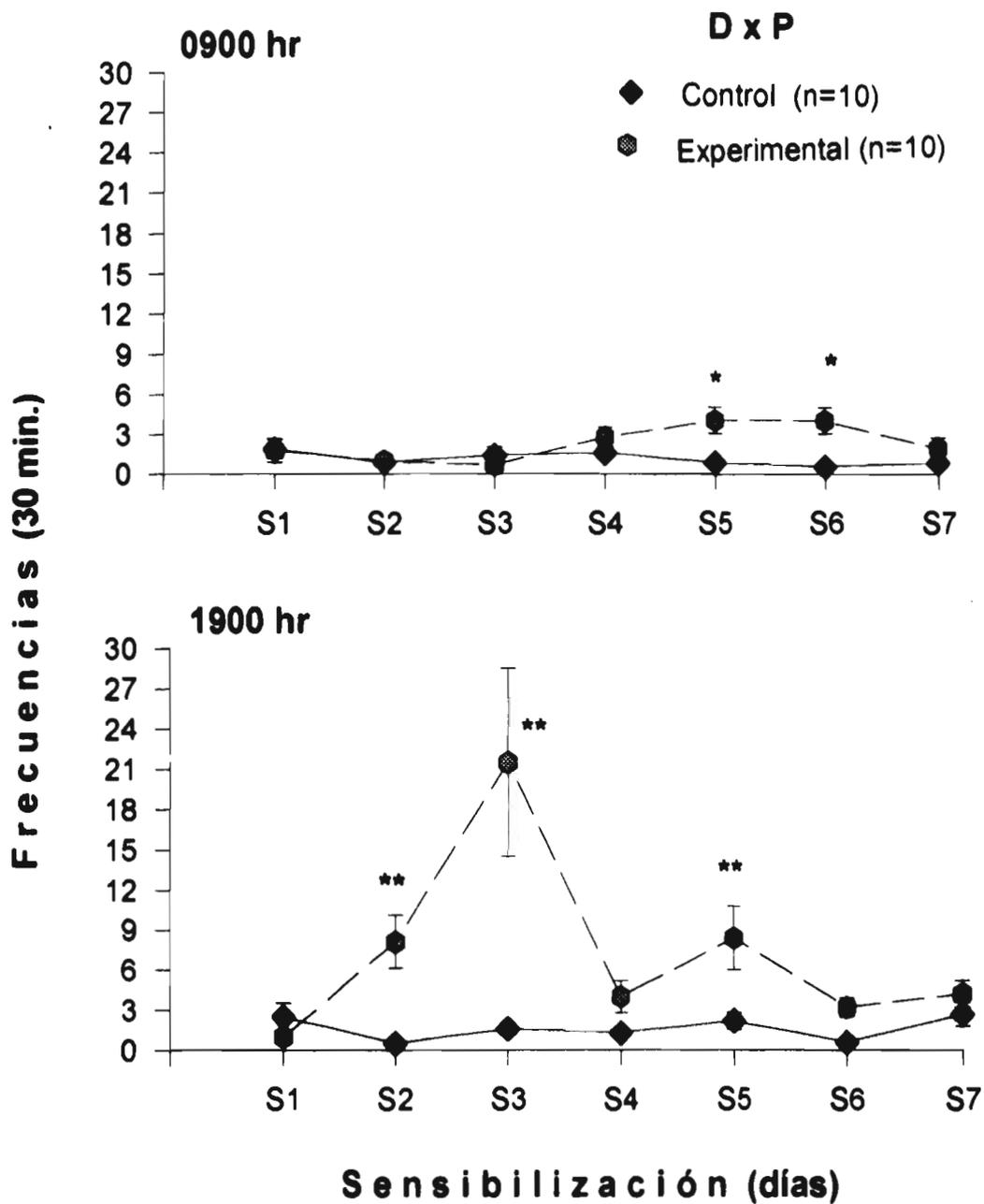


Figura 10.1

valores del grupo experimental estuvieron significativamente elevados en los días S2, S3 y S5 ($p < 0.01$, t de Fisher's).

Exploración vertical. En la gráfica superior de la figura 11.1 mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=7.7$ $p < 0.05$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=9.8$ $p < 0.005$ para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=4.3$ $p < 0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias mostradas inicialmente (S1 y S2) por el grupo control comienzan a reducirse alcanzando sus valores más bajos para los días finales de la sensibilización. En el grupo experimental DxP esta distribución no se observó, de tal modo que para los días S4, S5, y S6 los valores del grupo DxP fueron significativamente mayores que su control. ($p < 0.01$) y para S3 ($p < 0.05$, t de Fisher's).

La distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas se ilustran en el panel inferior de la misma figura 11.1. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=2.5$ $p = .129$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=.88$ $p = .50$ (ns), mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=3.0$ $p < 0.005$. Los asteriscos indican que los valores del grupo experimental estuvieron significativamente elevados en los días S4 ($p < 0.05$), S5 y S6 ($p < 0.01$, t de Fisher's).

Husmeo. En la gráfica superior de la figura 12.1 mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=20.4$ $p < 0.005$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=3.1$ $p < 0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=4.09$ $p < 0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias mostradas por el grupo control se mantuvieron constantes a lo largo del registro, siendo menores que las del grupo control. De tal modo que, para los días S1, S2, S3, S4 y S5 los valores del grupo control fueron significativamente mayores que el experimental ($p < 0.05$, t de Fisher's). Mientras que en el día S7 el grupo experimental tuvo frecuencias más altas ($p < 0.05$).

Exploración vertical

D x P

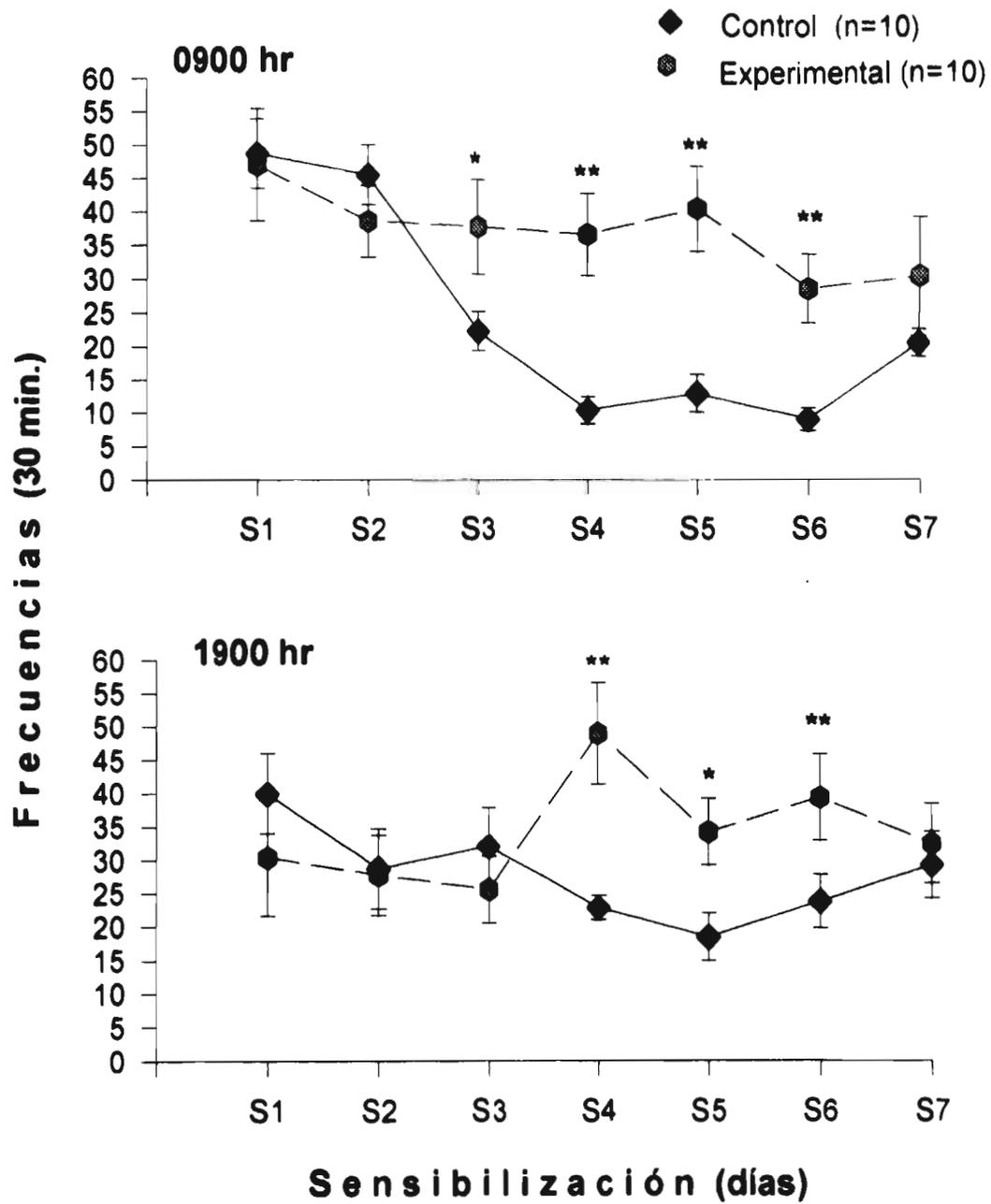


Figura 11.1

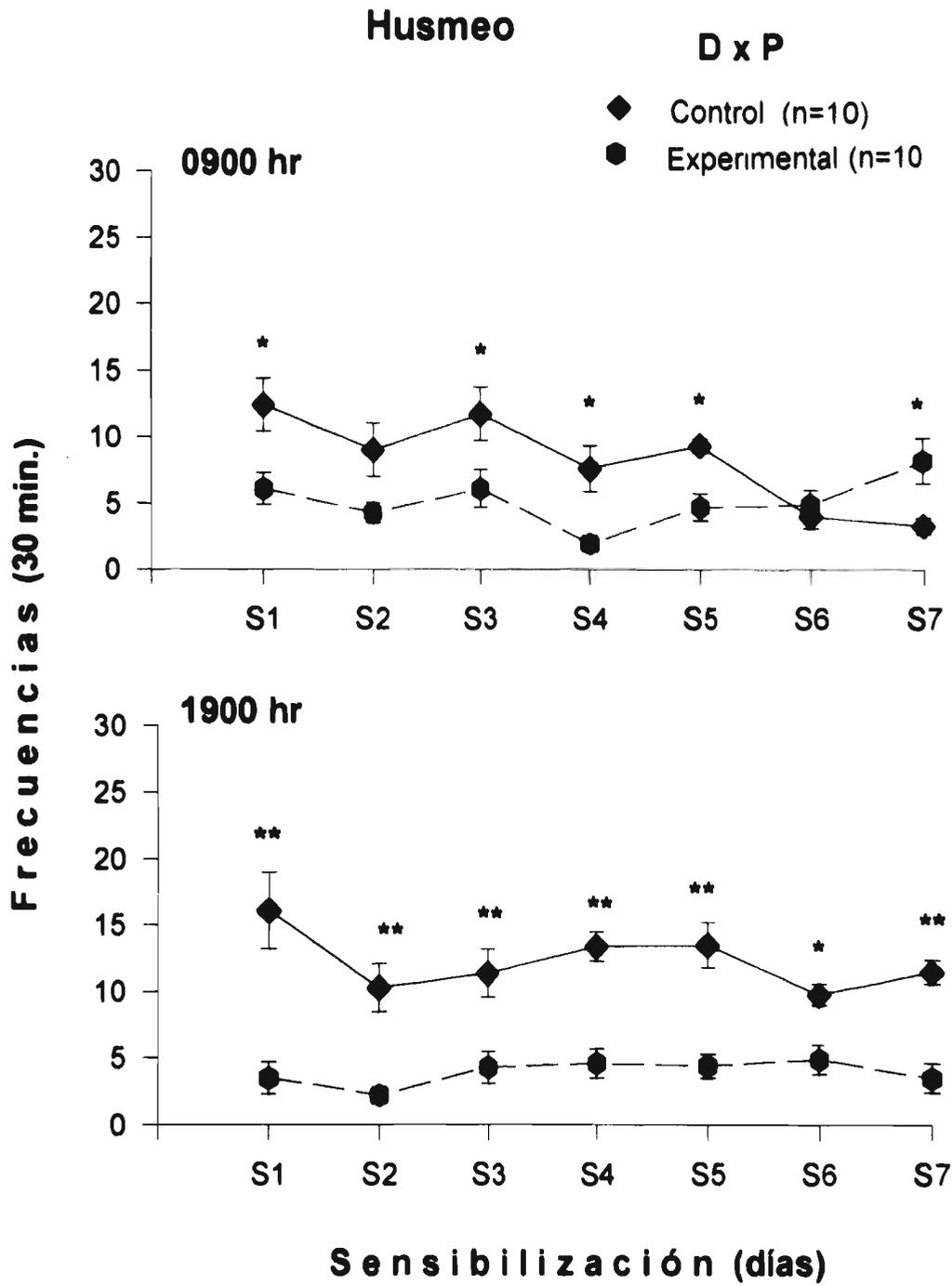


Figura 12.1

La distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas se ilustran en el panel inferior de la misma figura 12.1, gráfica inferior. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=38.2$ $p<0.005$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=2.37$ $p<0.05$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=3.9$ $p<0.005$. De manera similar al registro de las 0900 horas, los asteriscos indican que los valores del control estuvieron significativamente elevados en los días S1, S2, S3, S4, S5 y S7 ($p<0.05$, t de Fisher's)

Roer. En la gráfica superior de la figura 13.1 mostramos la distribución de las frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=93.4$ $p<0.005$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=3.4$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=2.85$ $p<0.05$ para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias mostradas por el grupo control se mantuvieron bajas pero constantes a lo largo del registro, siendo mayores en el grupo experimental. De tal modo que, para los días S2, S3, S4, S5, S6 y S7 los valores del grupo DxP fueron significativamente mayores que su control. ($p<0.05$, t de Fisher's).

La distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas se ilustran en el panel inferior de la misma figura 13.1, parte inferior. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=52.2$ $p<0.005$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=3.14$ $p<0.05$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=5.9$ $p<0.005$. De manera similar al registro de las 0900 horas, los asteriscos indican que los valores del grupo experimental estuvieron significativamente elevados en los días S1, S5, S6 y S7 ($p<0.01$, t de Fisher's), mientras que para S2, obtuvimos una ($p<0.05$).

Quieto. En la figura 14.1, mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=15.6$ $p<0.005$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=2.6$ $p<0.05$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=1.19$ $p=.31$ (ns) para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias mostradas por el grupo experimental se mantuvieron bajas pero constantes a lo largo del registro, siendo menores que las del grupo control. De tal modo que, para los días S5 y S6

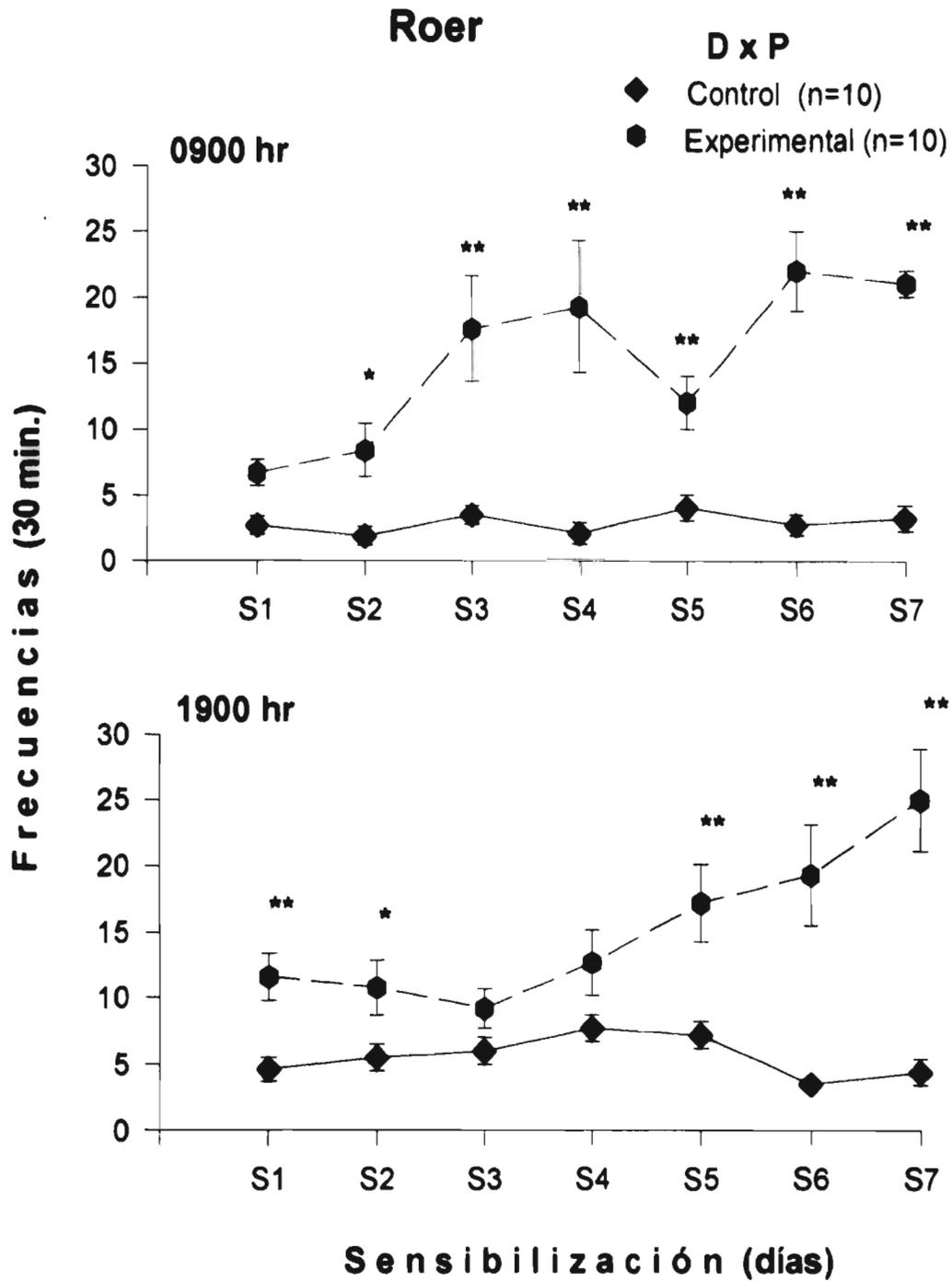


Figura 13.1

Quieto

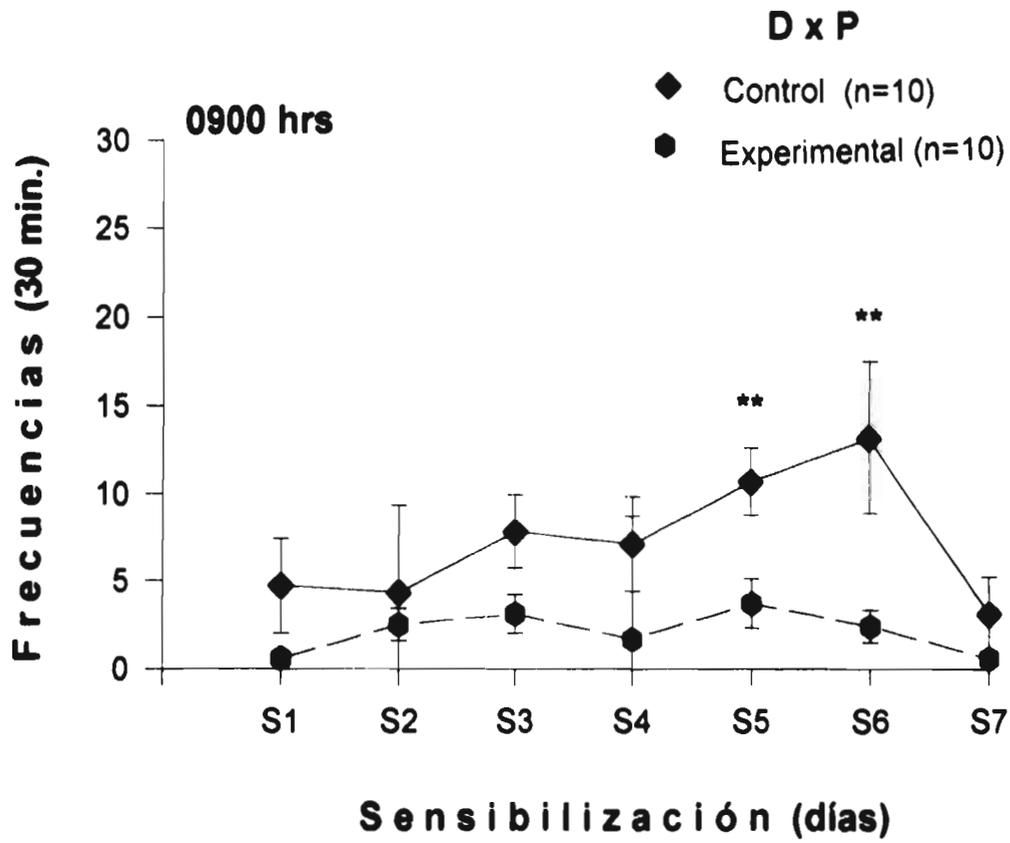


Figura 14.1

los valores del grupo control fueron significativamente mayores a las del grupo experimental ($p < 0.05$, t de Fisher's).

La distribución de las escasas frecuencias durante el registro de las 1900 horas indican que el factor nutricional tiene una $F(1,18) = 87$ $p = 0.36$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6) = 1.5$ $p = .156$ (ns), mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6) = .7$ $p = 0.612$ (ns) (gráfica no incluida).

Autoaseo. En la gráfica superior de la figura 15.1, mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18) = 4.5$ $p < 0.05$ para el factor nutricional, una $F(1,6) = 3.7$ $p < 0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6) = 3.02$ $p < 0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias mostradas por el grupo control y experimental fueron muy similares a lo largo del registro, siendo mayores en el grupo experimental para los días S1 y S7 ($p < 0.05$, t de Fisher's).

La distribución de las frecuencias de autoaseo en el registro de las 1900 horas se ilustran en el panel inferior de la misma figura. El factor nutricional tiene una $F(1,18) = 5.3$ $p < 0.05$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6) = 7.7$ $p < 0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6) = .62$ $p = 0.712$ (ns). El único día en el cual las hembras experimentales se asearon más fue el día S2 ($p < 0.05$, t de Fisher's), a pesar de que en general los valores del grupo DXP fueron más altos que los del grupo control.

Autoaseo

D x P

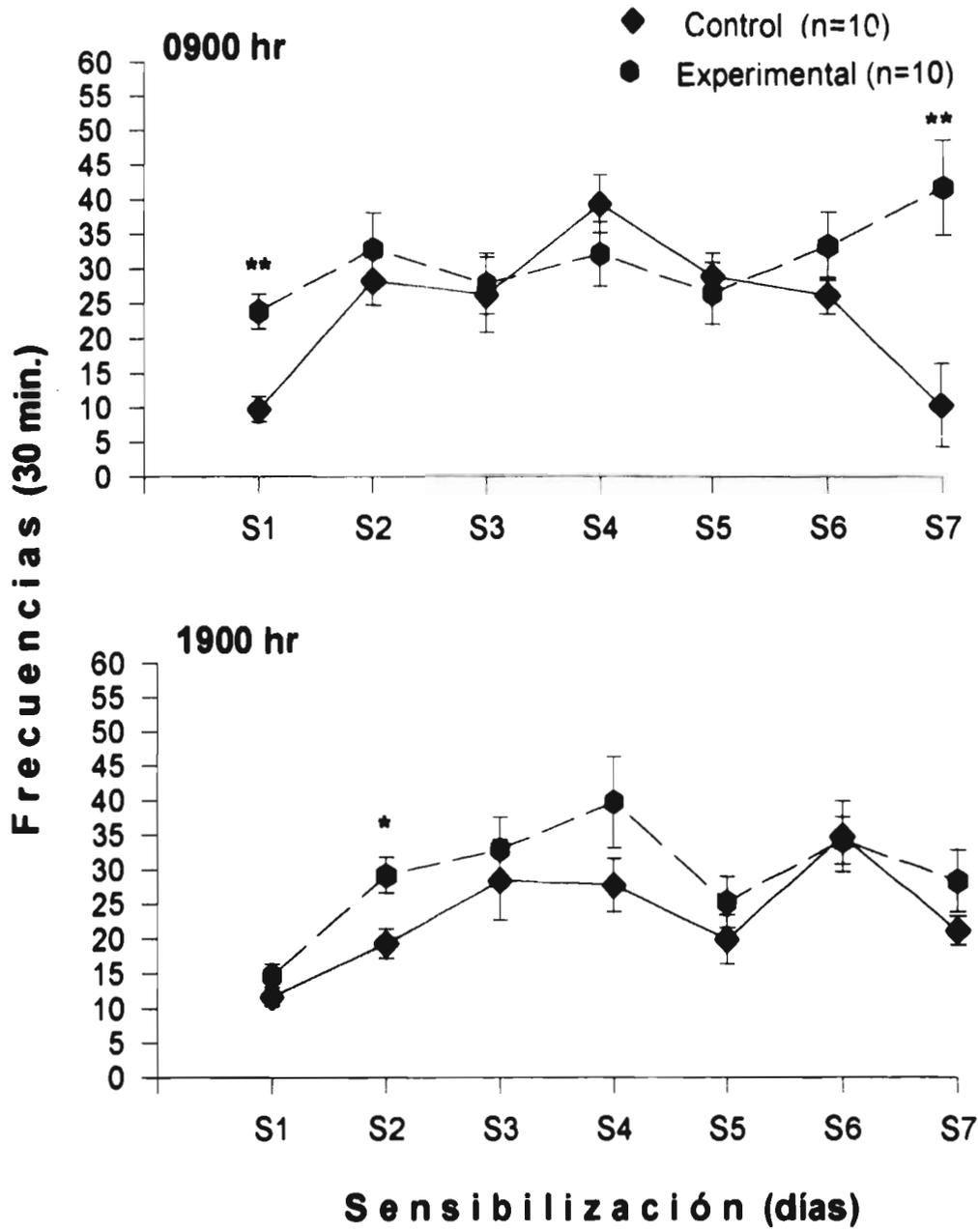


Figura 15.1

TABLA 2.1. RESUMEN DE RESULTADOS EXPERIMENTO 1. D x P

CONDUCTA MATERNAL DURANTE LA SENSIBILIZACION

PARAMETROS	REGISTROS**	
	0900 hr	1900 hr
NUMERO DE CRIAS ACARREADAS	↓	↓
LATENCIAS DE ACARREO	↑	↑
ASEO A LAS CRIAS	↓	↑
ECHADA SOBRE LAS CRIAS	↓	↓
ENTERRAR A LAS CRIAS	↑	↑
HUSMEAR A LAS CRIAS	↑	—
MANIPULAR A LAS CRIAS	↓	↑

****diferencias significativas (ANOVA): los incrementos (↑) o decrementos (↓) son del grupo experimental vs su grupo control.**

TABLA 3.1. RESUMEN DE RESULTADOS

EXPERIMENTO 1. D x P

OTRAS CONDUCTAS

PARAMETROS	REGISTROS**	
	0900 HR	1900 HR.
EXPLORACION HORIZONTAL	↑	↑
EXPLORACION VERTICAL	↑	↑
HUSMEO	↓	↓
ROER	↑	↑
QUIETO	↓	—
ASEO	↑	↑

**diferencias significativas (ANOVA): los incrementos (↑) o decrementos (↓) son del grupo experimental vs su grupo control.

EXPERIMENTO 2.- Conducta maternal inducida por sensibilización (S) de hembras adultas desnutridas durante la lactancia al ser cuidadas por madres ligadas de los conductos galactóforos (DxL).

Distribución de la curva de peso corporal. La tabla 1 2 nos muestra los valores (media±error estandar) obtenidos para este parámetro. Reconocemos que a lo largo de la lactancia (periodo de desnutrición) como a lo largo del desarrollo postlactacia (etapa de rehabilitación nutricional) las hembras experimentales pesaron siempre menos que sus controles. El análisis de varianza reportó valores de $F(1,18)=65.5$ $p<0.0001$ para el factor nutricional, $F(1,9)=3615.5$ $p<0.0001$, para el factor edad y finalmente $F(1,9)=3.77$ $p<0.0002$ para la interacción de los factores de variación. Si bien conforme avanzó el registro, los pesos de los animales experimentales se incrementaron, sin embargo, nunca se alcanzó el promedio de los animales control.

Aparición del primer acarreo. Para analizar este evento conductual utilizamos la prueba estadística de Kaplan Meier dentro del análisis de sobrevivencia. Los resultados obtenidos para la ocurrencia del primer acarreo en los grupos mostraron diferencias significativas $g(1)=6.661$ $p<0.005$ para el registro de las 0900 horas. La gráfica superior de la figura 1 2 nos muestra que tres animales del grupo control acarrearón durante el segundo día de sensibilización, el resto de las hembras acarrearón entre los días S3 y S7 de la sensibilización. En el grupo de hembras neonatalmente desnutridas, por ser cuidadas por hembras ligadas de los conductos galactóforos (DxL), el primer acarreo se presentó en tres hembras en el día S5, tres hembras ejecutan su primer acarreo en el día S6 y dos más acarrearón en el día S7, para dos hembras DxL nunca obtuvimos registros de acarreo.

Cuando el análisis de la ocurrencia del primer acarreo se realiza con los datos obtenidos para el registro de las 1900 horas (gráfica inferior de la figura 1.2) encontramos que también existen diferencias significativas entre los grupos $g(1)=4.44$ $p<0.05$. La gráfica nos muestra que la ocurrencia del primer acarreo en dos hembras del grupo control se

Tabla 1.2**EXPERIMENTO 2 D x L.**

Peso corporal a lo largo de la lactancia y el crecimiento postnatal de las hembras.
(media \pm error estandard)

Edad (días)	Control (n=10)	Experimentales (n=10)
5	15.6 \pm .49	9.5 \pm .4
10	24.3 \pm .66	15.2 \pm .7
20	45.2 \pm 1.3	37.5 \pm .7
30	96.7 \pm 1.9	84.2 \pm 2.4
40	163.8 \pm 2.8	144.5 \pm 2.
50	240.1 \pm 4	209.7 \pm 3.3
60	283.2 \pm 4.4	260.9 \pm 3.8
70	309.1 \pm 1.9	290.2 \pm 2.4
80	328.6 \pm 2.6	315 \pm 2.5
90	363.2 \pm 2.9	342.5 \pm 3.9

ANOVA. $F(1,18)=65.5$ $p < 0.0001$ para el tratamiento; $F(1,9)=3615.5$ $p < 0.0001$ para la edad; $F(1,9)=3.77$ $p < 0.0002$ para la interacción.

Aparición del primer acarreo

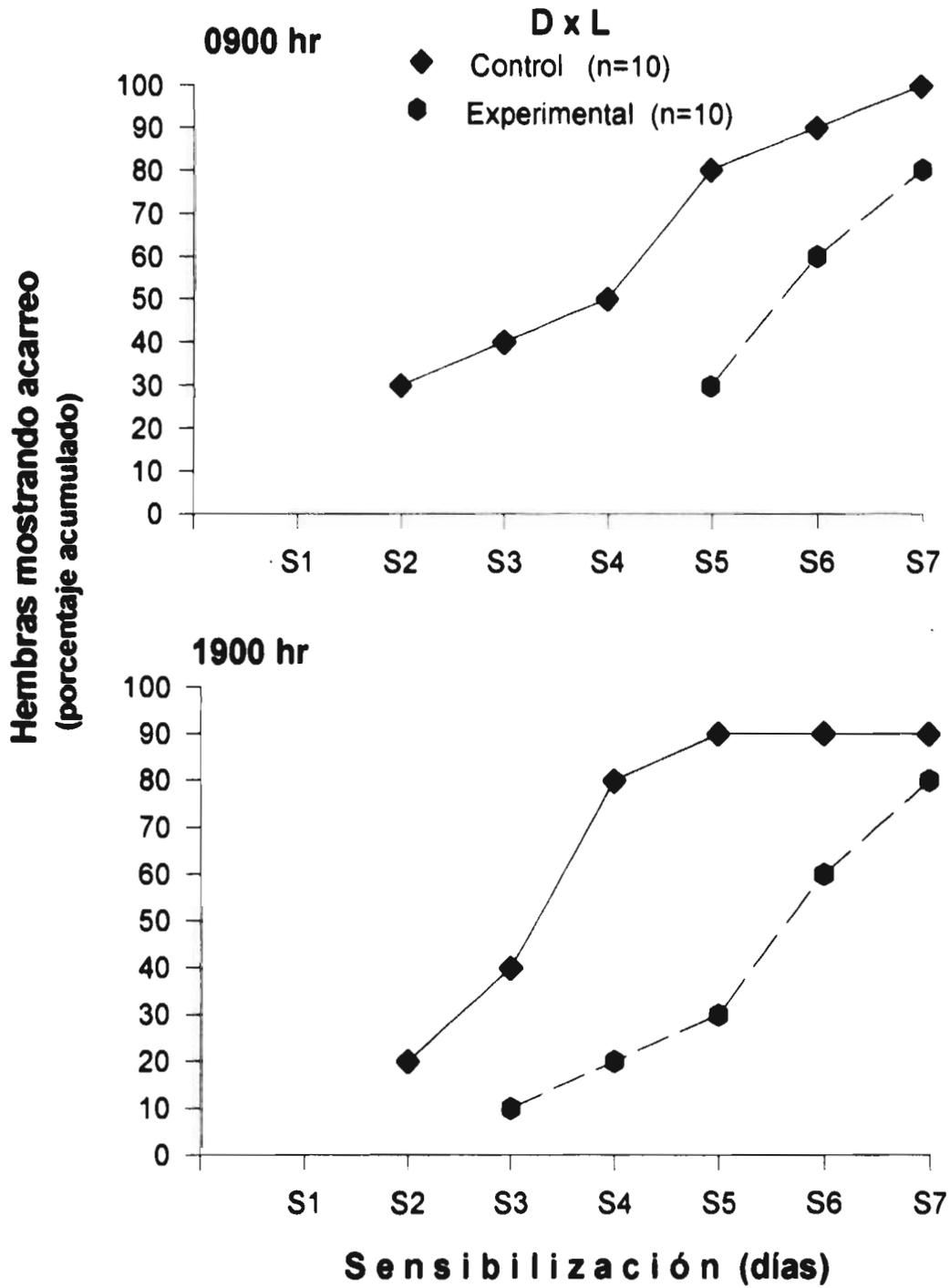


Figura 1.2

realizó en el día S2, dos hembras más acarrearón el día S3, cuatro más iniciaron el acarreo en el día 4 y una más para el S5. En el caso del grupo experimental DxL, el primer acarreo se registró en el día S3, día en el cual sólo una hembra acarreoó, una más lo registró para S4 y una en S5; tres para el día S6, finalmente en el último (S7) dos hembras la ejecutaron. Dos hembras DxL no mostraron acarreo durante las observaciones de las 1900 horas.

Acarreo de todas las crías en una observación Los datos revelaron, 0900 horas (gráfica superior de la figura 2.2) que en el grupo control este acarreo se inició en dos hembras durante el día S2; dos hembras lo registraon durante más el día S3; una hembra lo mostró para el día S4; dos más durante el día S5; una durante el día S6 y las dos restantes hembras control durante el último día de la prueba (día S7). Para el grupo experimental DxL los registros indican que sólo en cinco hembras registramos al acarreo de las tres crías en la misma sesión. Dos hembras lo hicieron durante el día de sensibilización S5 y dos más en el día S6. Por último durante el día S7 registramos el acarreo de las tres crías en una hembra experimental más. De esta distinta distribución temporal entre los grupos se obtuvo una diferencia estadística significativa $gl(1)=7.528 p<0.005$.

En este mismo evento conductual, pero ahora analizado para los registros obtenidos a las 1900 horas (gráfica inferior de la figura 2.2) obtuvimos diferencias significativas entre los grupos, $gl(1)=5.37 p<0.05$. En el grupo control dos hembras acarrearón a todas sus crías en el día S2, dos más lo hicieron en el día S3; tres más en el día S4, una más en el día S5 y una más en el día S6; sólo en una hembra control no registramos el acarreo de todas las crías. En el grupo experimental DxL, este acarreo se presentó hasta el día S3, cuando una hembra lo realizó; una más se registró durante el día S5, dos más en el día S6 y en tres hembras lo registramos para el día S7; en tres hembras del grupo experimental DxL no se registró la ocurrencia de este evento conductual.

Número de crías acarreadas. El análisis de varianza reveló que el factor asociado al tratamiento nutricional provocó diferencias en el número de crías acarreadas durante los

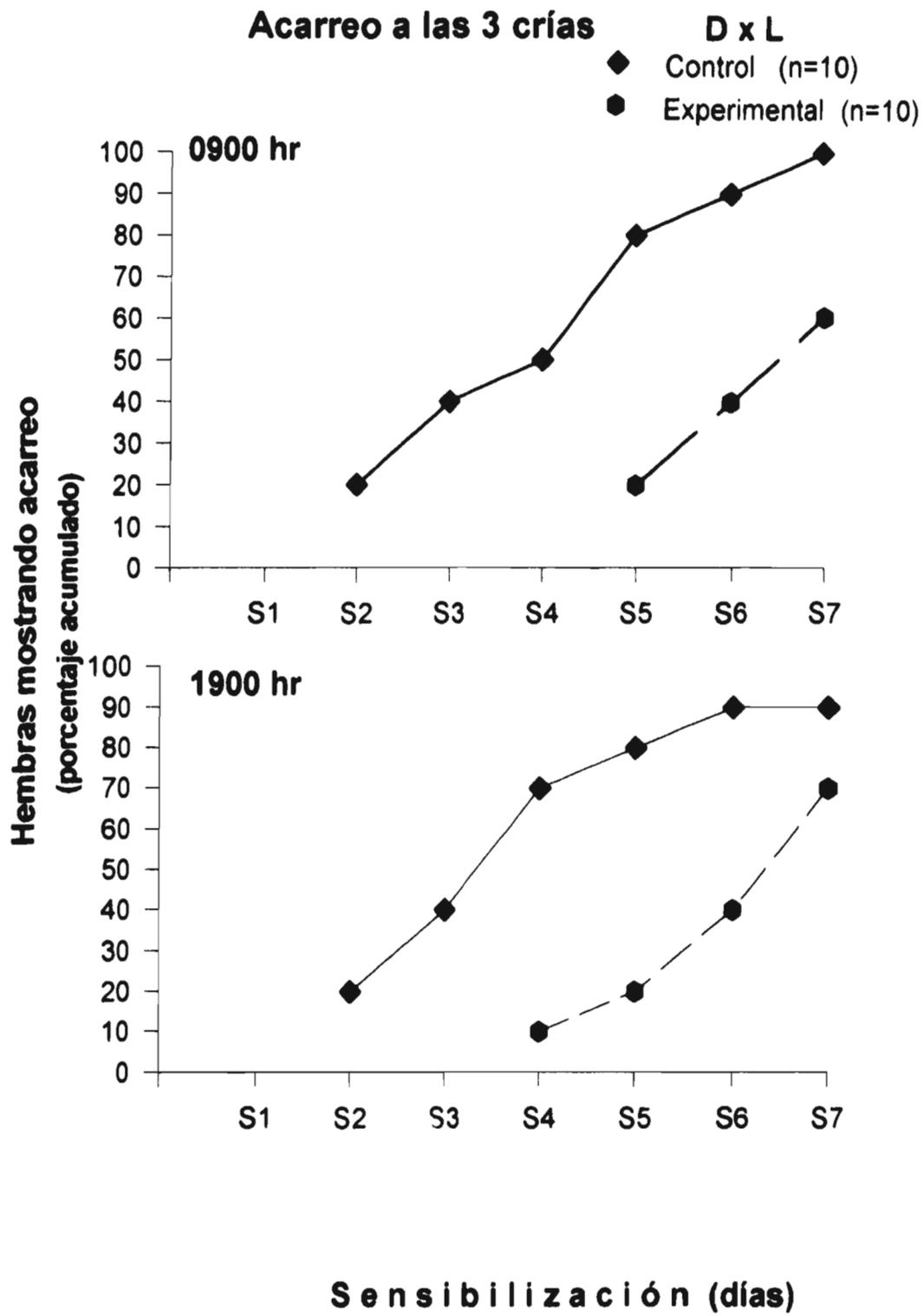


Figura 2.2

registros de las 0900 horas, $F(1,18)=18.6$ $p<0.005$. Los valores obtenidos para el cálculo de la varianza asociada a la duración de la sensibilización fueron de $F(1,6)=20.3$ $p<0.005$, mientras que los valores resultantes de la interacción de los factores fueron de $F(1,6)=1.9$ $p<0.05$. La gráfica superior de la figura 3.2 (0900 hr) nos muestra que ya para los días S5, S6 y S7 las hembras control tenían promedios cercanos a tres en el número de crías acarreadas. En contraste en el grupo experimental DxL, los valores de este parámetro, sólo registrados a partir del día S5, permanecieron en números muy bajos para el resto del estudio. Los asteriscos de la gráfica indican que para los días S4, S5, S6 y S7 la significancia fue de $p<0.05$ en cada caso (t de Fisher's).

Cuando analizamos el registro de las 1900 horas (figura 3.2 gráfica inferior) encontramos la siguiente distribución: las hembras del grupo control a partir del día S4 tuvieron valores superiores a 2 en el número de crías acarreadas. En el grupo experimental DxL los valores registrados a partir del día S3, se mostraron menores al grupo control. Los análisis posteriores indicaron que las diferencias encontradas a las 1900 horas, se debieron a los días S3, S4, S5 y S6 ($p<0.05$, t de Fisher's) (asteriscos en la gráfica).

Latencias de acarreo. La gráfica superior de la figura 4.2 nos muestra los valores de tiempo (segundos) en las latencias de las 0900 hr. Encontramos que los valores de las hembras control fueron muy bajos. En contraste el acarreo de las hembras experimentales, que se inició para el día S5, se registró más alto. De esta distribución temporal se obtienen diferencias significativas asociadas al factor nutricional $F(1,58)=15.5$ $p<0.005$, al factor duración de la sensibilización $F(1,6)=14.6$ $p<0.005$ y a la interacción entre ambos $F(1,6)=12.01$ $p<0.005$. Los asteriscos de la gráfica indican que para los días S6 y S7 se obtuvo una $p<0.01$, mientras que para S5 obtuvimos una $p<0.05$, (t de Fisher's).

En esa misma figura, observamos la distribución de las latencias de acarreo para las 1900 hr. Observamos una distribución similar a la anterior en el grupo control. En el grupo experimental DxL, las latencias que se registraron a partir del día S3 se incrementaron progresivamente en los días S6 y S7. Los valores del ANOVA para el factor nutricional

Crias acarreadas

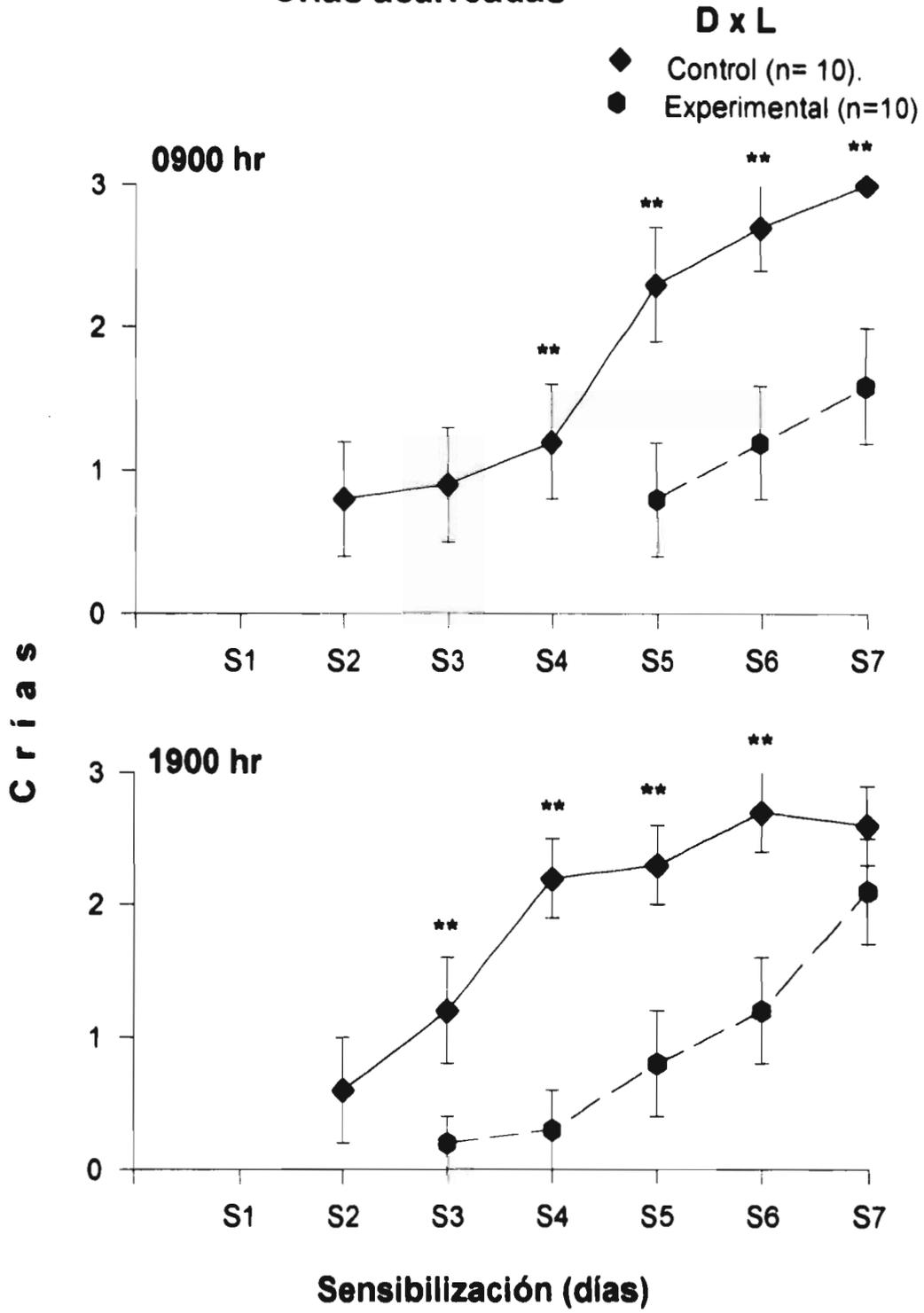


Figura 3.2

Latencias de acarreo

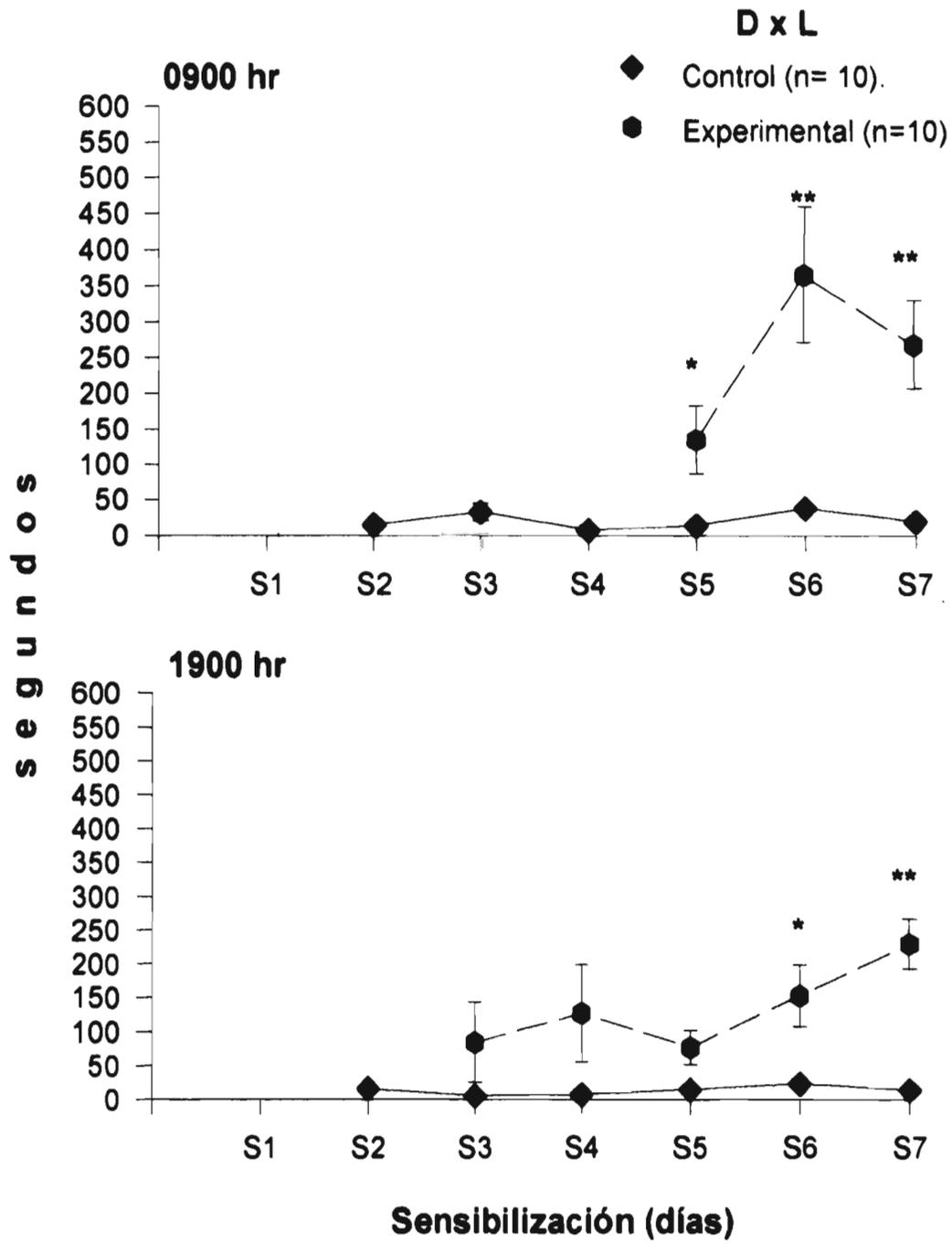


Figura 4.2

fueron de $F(1,58)=10.7$ $p<0.005$, para el factor de duración de la sensibilización se obtuvo una $F(1,6)=5.8$ $p<0.005$, mientras que la interacción obtuvo una $F(1,6)=5.02$ $p<0.005$. Los asteriscos de la gráfica ilustran que para los días S6 y S7 se obtuvieron significancias de $p<0.01$ (t de Fisher's).

Aseo de las crías. Encontramos, durante el registro de las 0900 horas, gráfica superior de la figura 5.2 que los valores estadísticos asociados al factor nutricional fueron de $F(1,18)=4.9$ $p<0.05$. Los valores para la duración de la sensibilización fueron de $F(1,6)=5.5$ $p<0.005$, mientras que los valores para la interacción fueron de $F(1,6)=1.01$ $p=.42$ (ns). El análisis posterior asignó las significancias para el día S4 ($p<0.05$, t de Fisher's) observamos que las frecuencias del aseo de las crías en las hembras control se incrementó a partir del día S4, permaneciendo así su registro para el resto del estudio. Mientras que las frecuencias del grupo experimental DxL mostraron sólo un ligero incremento hacia el final del estudio.

En el registro de las 1900 horas (gráfica inferior) se encontró para el factor nutricional una $F(1,18)=8.7$ $p<0.005$; para el factor asociado a los días de sensibilización fue de $F(1,6)=4.4$ $p<0.005$, mientras que para la interacción se obtuvo una $F(1,6)=1.1$ $p=.369$ (ns). La distribución de los valores del grupo control, en contraste al registro de las 0900 horas, son ahora más bajos sólo en el día S6 ($p<0.05$, t de Fisher's).

Echada sobre las crías. En la gráfica superior de la figura 6.2, mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=8.8$ $p<0.005$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=14.9$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=2.9$ $p<0.05$ para la interacción. Observamos en la gráfica que los valores del grupo control se incrementaron a partir del día S3. En efecto, el análisis posterior mostró que las diferencias (asteriscos) estaban en los días S4, S5 y S6 ($p<0.05$, t de Fisher's) cuando las hembras del grupo control alcanzaron mayores frecuencias para estar echadas sobre la crías.

Cuando observamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas (gráfica inferior) notamos que la distribución de las frecuencias es muy similar al registro de

Aseo a las crías

D x L

- ◆ Control (n=10)
- Experimental (n=10)

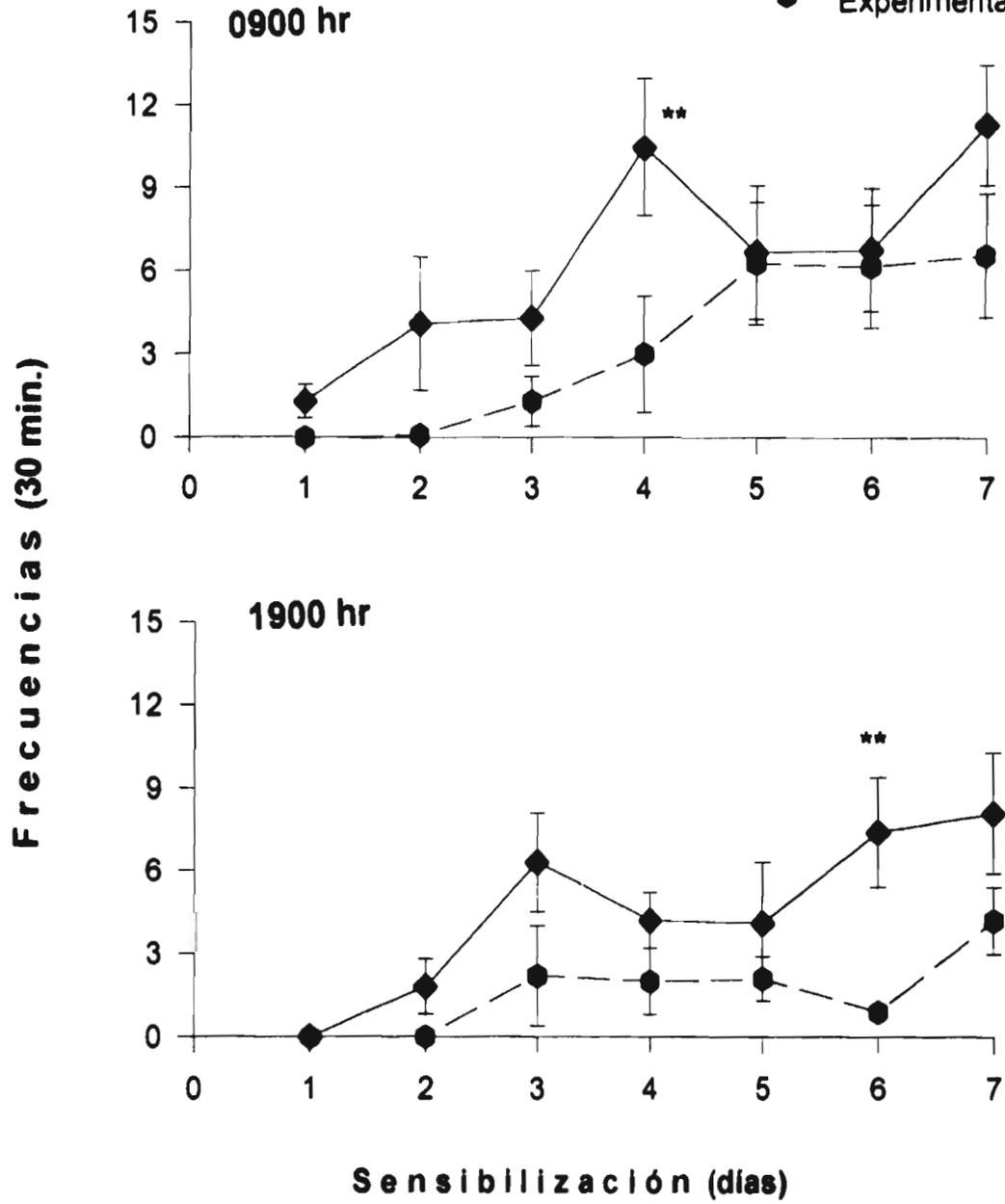


Figura 5.2

Echada sobre las crías

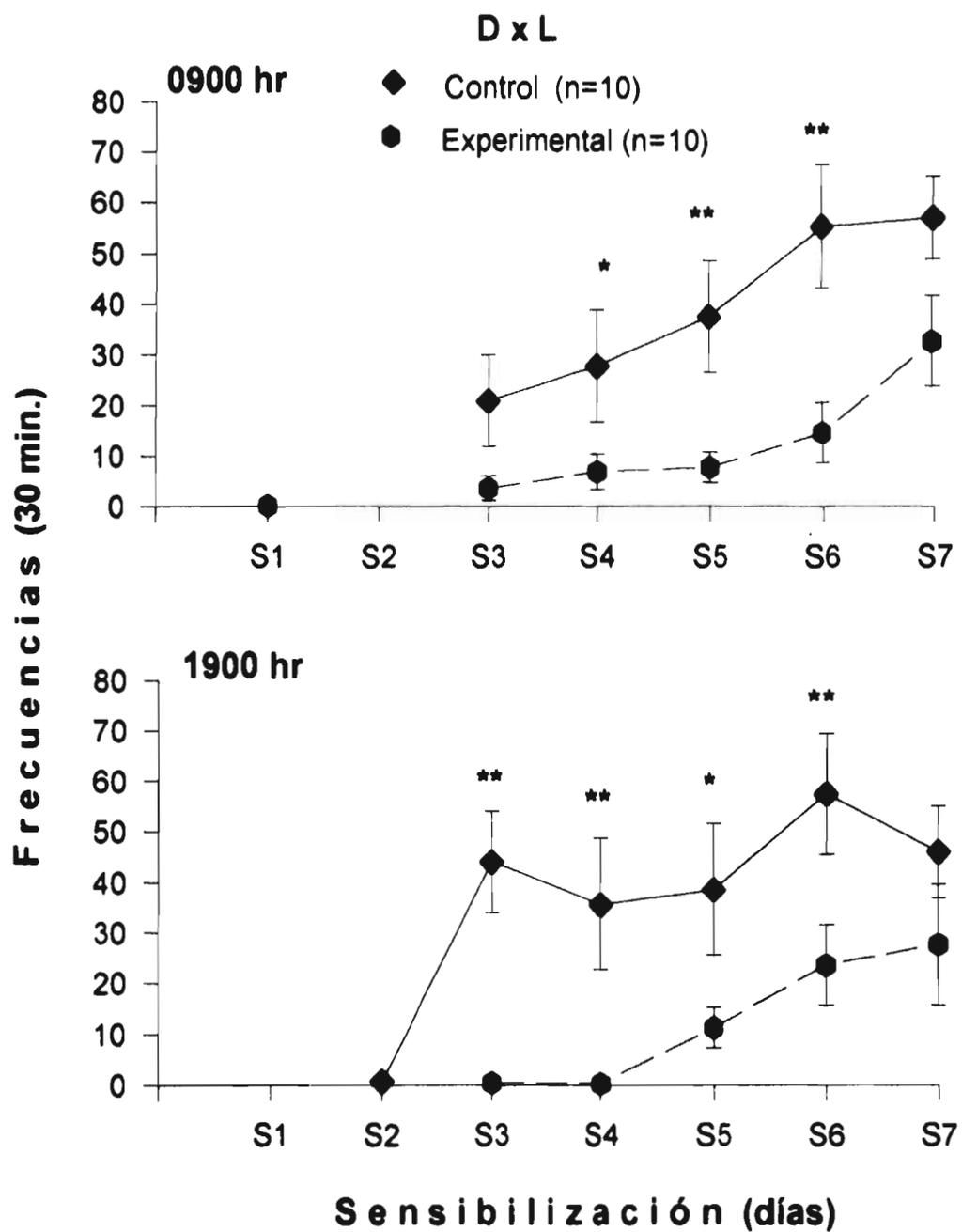


Figura 6.2

las 0900 horas. Ahora el factor nutricional tiene una $F(1,18)=10.07$ $p<0.005$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=10.1$ $p<0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=2.9$ $p<0.05$. Los asteriscos indican que los valores del grupo control estuvieron significativamente más elevados para los días S3, S4, S5 y S6 ($p<0.05$, t de Fisher's).

Enterrar a las crías. La distribución de las escasas frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas, describió una $F(1,18)=1.6$ $p=0.22$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=2.7$ $p<0.05$ para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=2.4$ $p=0.05$ para la interacción (gráfica no incluida).

Cuando analizamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, obtuvimos para el factor nutricional una $F(1,18)=10.06$ $p<0.005$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=4.5$ $p<0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=3.7$ $p<0.005$. Los asteriscos, en la gráfica 7.2 indican que los valores del grupo experimental DxL estuvieron significativamente más elevados para los días S5, S6 y S7 ($p<0.05$, t de Fisher's).

Husmear a las crías. En la gráfica de la figura 8.2 mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=27.1$ $p<0.005$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=8.7$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=19.9$ $p<0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica que a partir del día S6 y S7 las frecuencias del grupo experimental DxP se elevan significativamente ($p<0.05$, t de Fisher's).

Cuando analizamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, notamos que el factor nutricional tiene una $F(1,18)=4.7$ $p=0.05$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=1.02$ $p=.415$ (ns), mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=1.71$ $p=.12$ (ns) (gráfica no incluida)

Enterrar a las crías

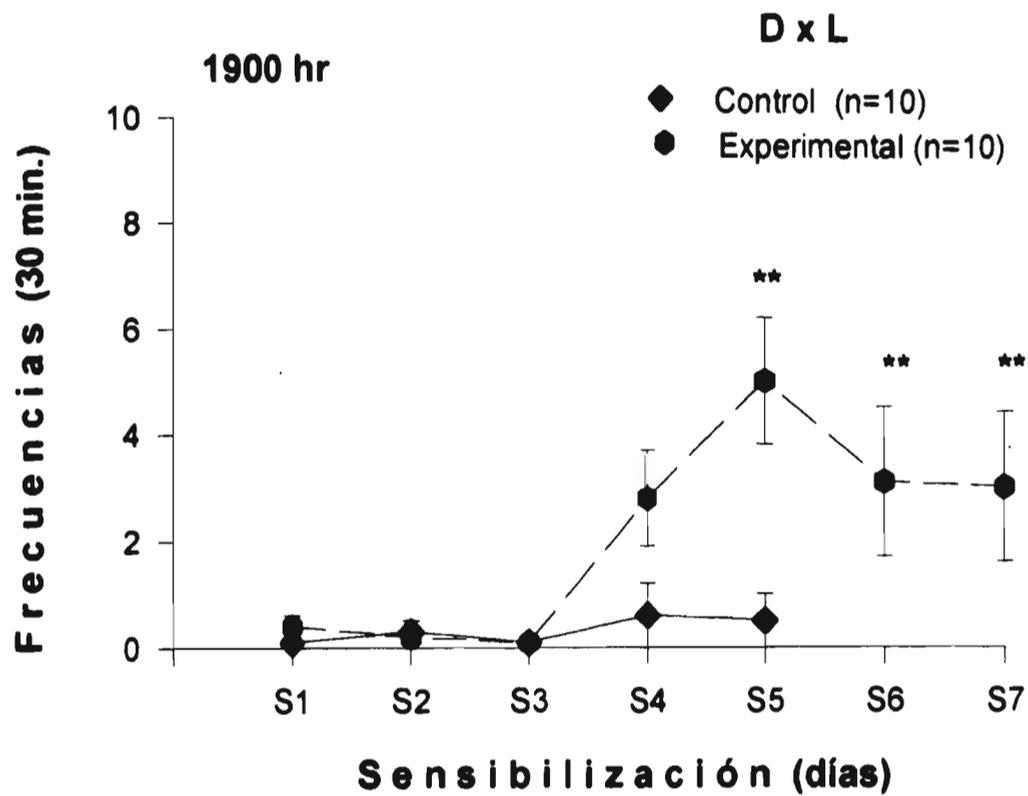


Figura 7.2

Husmear a las crías

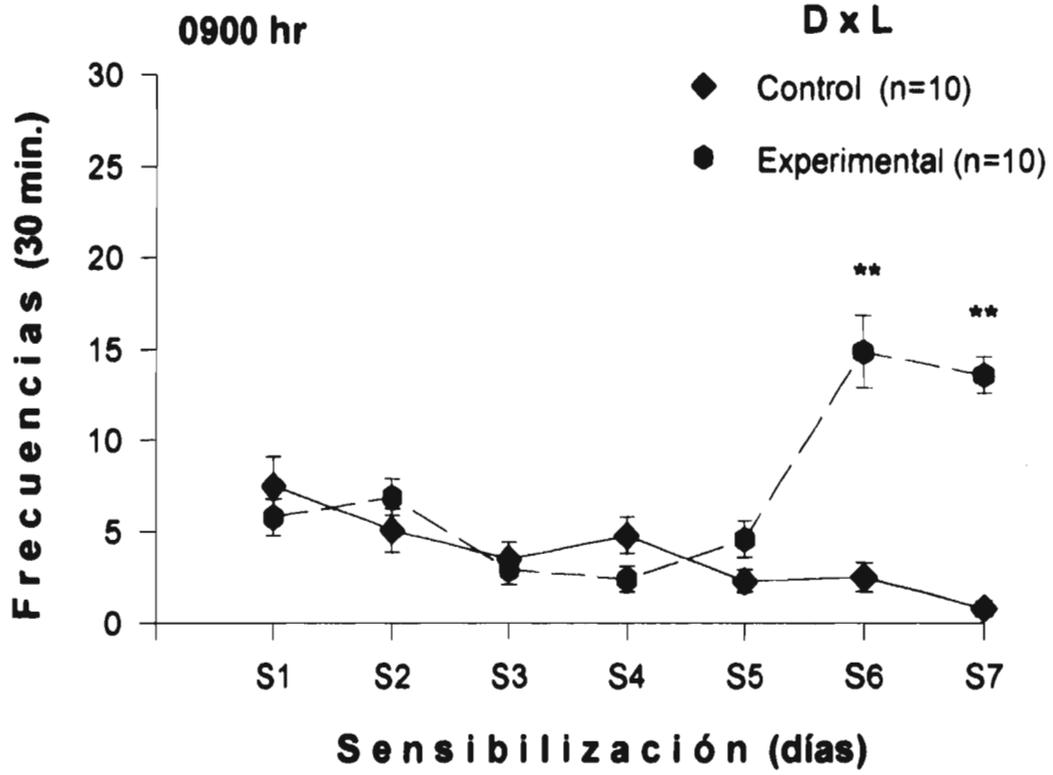


Figura 8.2

Manipular a las crías. El ANOVA realizado con los registros de las 0900 hr describió una $F(1,18)=.14$ $p=.31$ (ns) para el factor nutricional, una $F(1,6)=.75$ $p<0.60$ (ns) para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=.21$ $p<0.061$ (ns) para la interacción (gráfica no incluida).

Cuando analizamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, notamos que el factor nutricional tiene una $F(1,18)=2.8$ $p=0.10$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=2.5$ $p<0.05$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=2.8$ $p=0.05$, (gráfica no incluida).

Escarbar. (0900 horas). El ANOVA describió una $F(1,18)=.33$ $p=.57$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=2.5$ $p<0.05$ para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=2.8$ $p<0.05$ para la interacción. Las bajas frecuencias registradas en ambos grupos a lo largo de la sensibilización difieren sólo en el día S3 ($p<0.05$, t de Fisher's), siendo las hembras control quienes más ejecutaron la conducta de escarbar (gráfica no incluida).

Cuando analizamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, notamos una distribución muy similar a la descrita para las 0900 horas. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=.35$ $p=.53$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=2.8$ $p<0.05$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=.79$ $p=.575$ (ns) (gráfica no incluida).

Exploración Horizontal. En la figura 9.2 mostramos la distribución de las escasas frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=3.5$ $p<0.05$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=1.6$ $p=.13$ (ns) para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=1.1$ $p=0.31$ (ns) para la interacción. Observamos en la gráfica que las bajas frecuencias registradas de exploración horizontal son para ambos grupos a lo largo de la sensibilización.

La distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas se ilustran en el panel inferior de la misma figura 9.2. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=4.2$ $p=0.053$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=3.5$ $p<0.005$, mientras que

Exploración horizontal

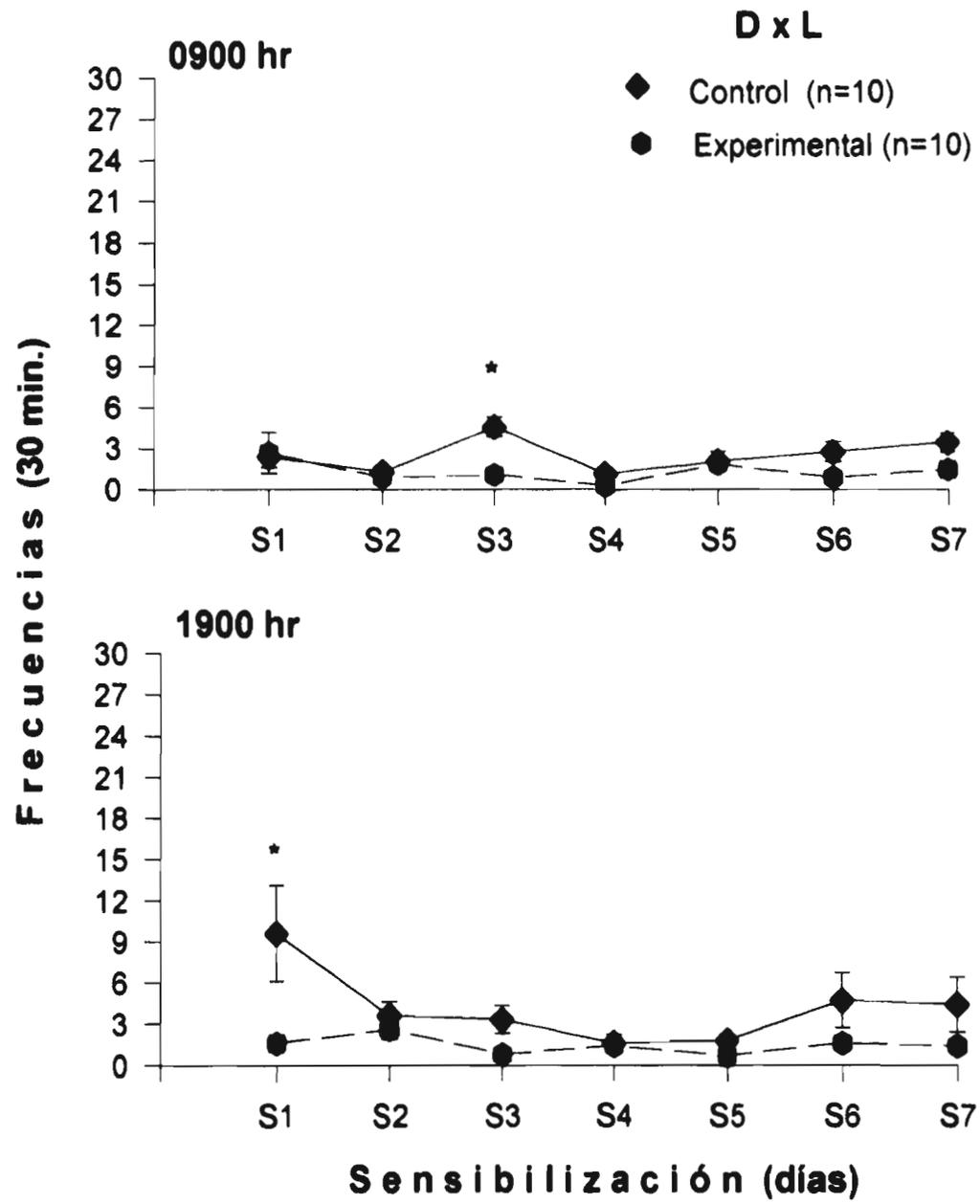


Figura 9.2

para la interacción encontramos una $F(1,6)=2.7$ $p<0.05$. Los valores del grupo control estuvieron significativamente elevados en el día S1 ($p<0.05$, t de Fisher's).

Exploración vertical En la gráfica de la figura 10.2 mostramos la distribución de frecuencias obtenidas en el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=.13$ $p=.72$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=10.9$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=9.5$ $p<0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias mostradas inicialmente (S1) por el grupo control comienzan a reducirse alcanzando sus valores más bajos para los días finales de la sensibilización. En el grupo experimental DxL esta distribución no se observó, de tal modo que para los días S4 y S7 los valores del grupo DxL fueron significativamente mayores que su control ($p<0.05$, t de Fisher's).

Para distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, el factor nutricional tiene una $F(1,18)=2.1$ $p=.162$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=11.7$ $p<0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=1.8$ $p=0.1006$ (ns) (gráfica no incluida).

Husmeo En la gráfica de la figura 11.2 mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=2.3$ $p=.14$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=13.6$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=3.2$ $p<0.05$ para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias mostradas por el grupo experimental se mantuvieron constantes a lo largo del registro, siendo muy similares a las del grupo control. En el día S2 los valores del grupo control fueron más altos que en el DxL ($p<0.05$, t de Fisher's).

Para la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, el factor nutricional tiene una $F(1,18)=.76$ $p=.394$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=9.6$ $p<0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=2.13$ $p=0.053$ (ns) (gráfica no incluida).

Exploración vertical

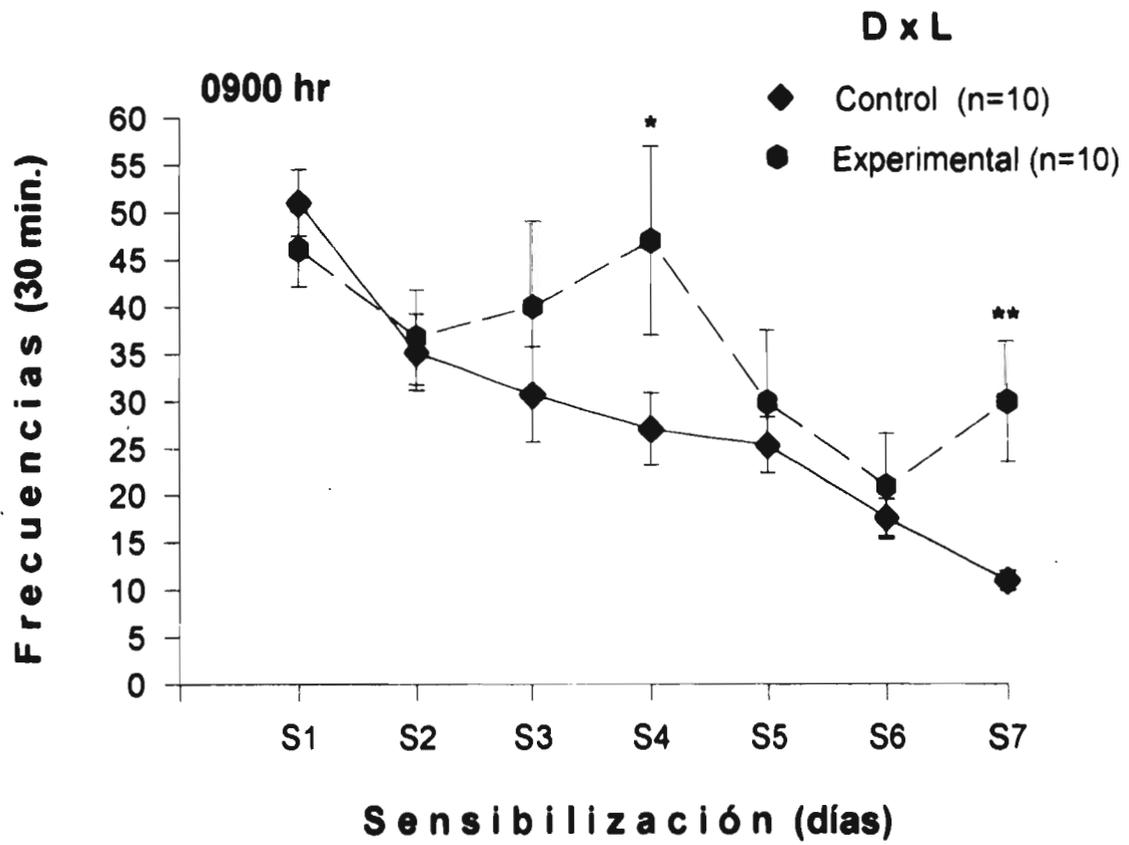


Figura 10.2

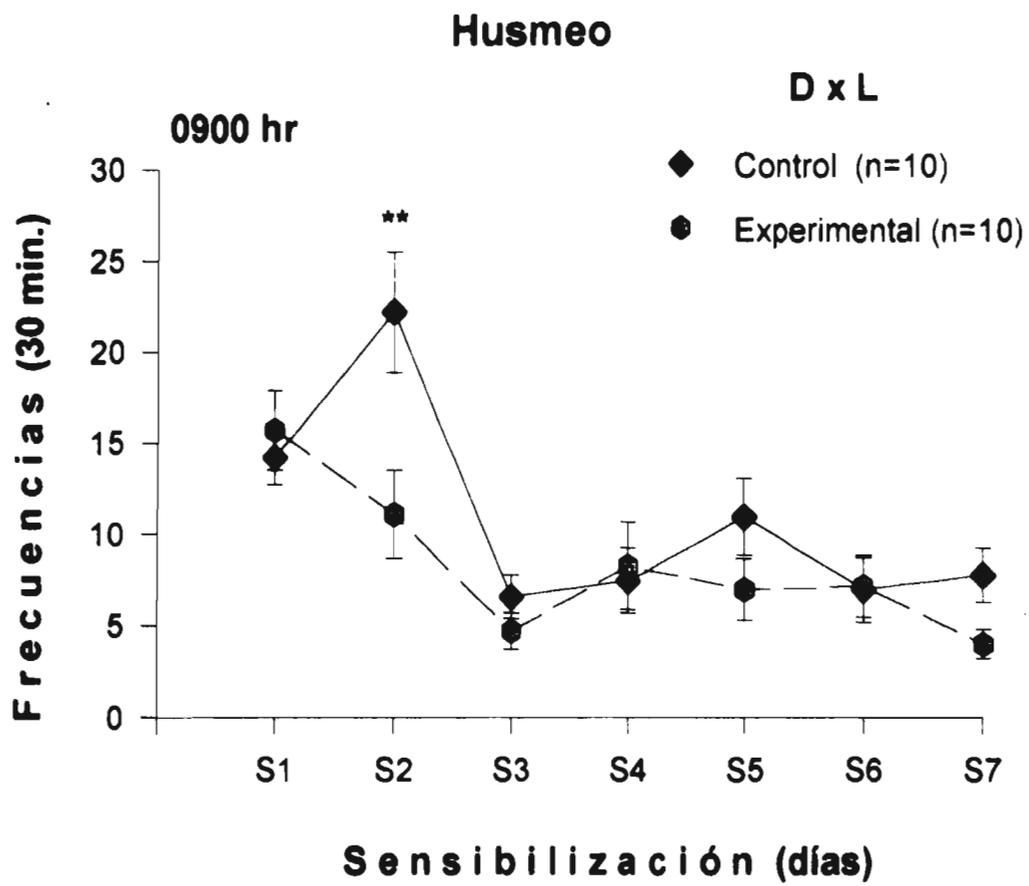


Figura 11.2

Roer. En la gráfica superior de la figura 12.2 mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=33.3$ $p<0.005$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=7.1$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=3.4$ $p<0.05$ para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias mostradas por el grupo control se mantuvieron constantes a lo largo del registro, siendo menores que las del grupo experimental DxL. De tal modo que, para los días S3, S4, S5, S6 y S7 los valores del grupo DxL fueron significativamente mayores que en su control. ($p<0.05$, t de Fisher's).

La distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas se ilustran en el panel inferior de la misma figura. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=65.1$ $p<0.005$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=2.5$ $p<0.05$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=8.77$ $p<0.513$ (ns). De manera similar al registro de las 0900 horas, los asteriscos indican que los valores del grupo experimental estuvieron significativamente elevados en los días S3, S5, S6 y S7 ($p<0.05$, t de Fisher's).

Quieto. En la gráfica 13.2 mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=7.5$ $p<0.05$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=.60$ $p=0.732$ (ns) para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=1.2$ $p=.291$ (ns) para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias reducidas mostradas por el grupo control se mantuvieron constantes a lo largo del registro, siendo menores que las del grupo control. De tal modo que, para los días S4, S5 y S7 los valores del grupo DxL fueron significativamente mayores que su control. ($p<0.05$, t de Fisher's).

Para distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, el factor nutricional tiene una $F(1,18)=1.8$ $p=0.19$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=1.03$ $p=.404$ (ns), mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=.706$ $p=0.645$ (ns) (gráfica no incluida).

Roer

D x L

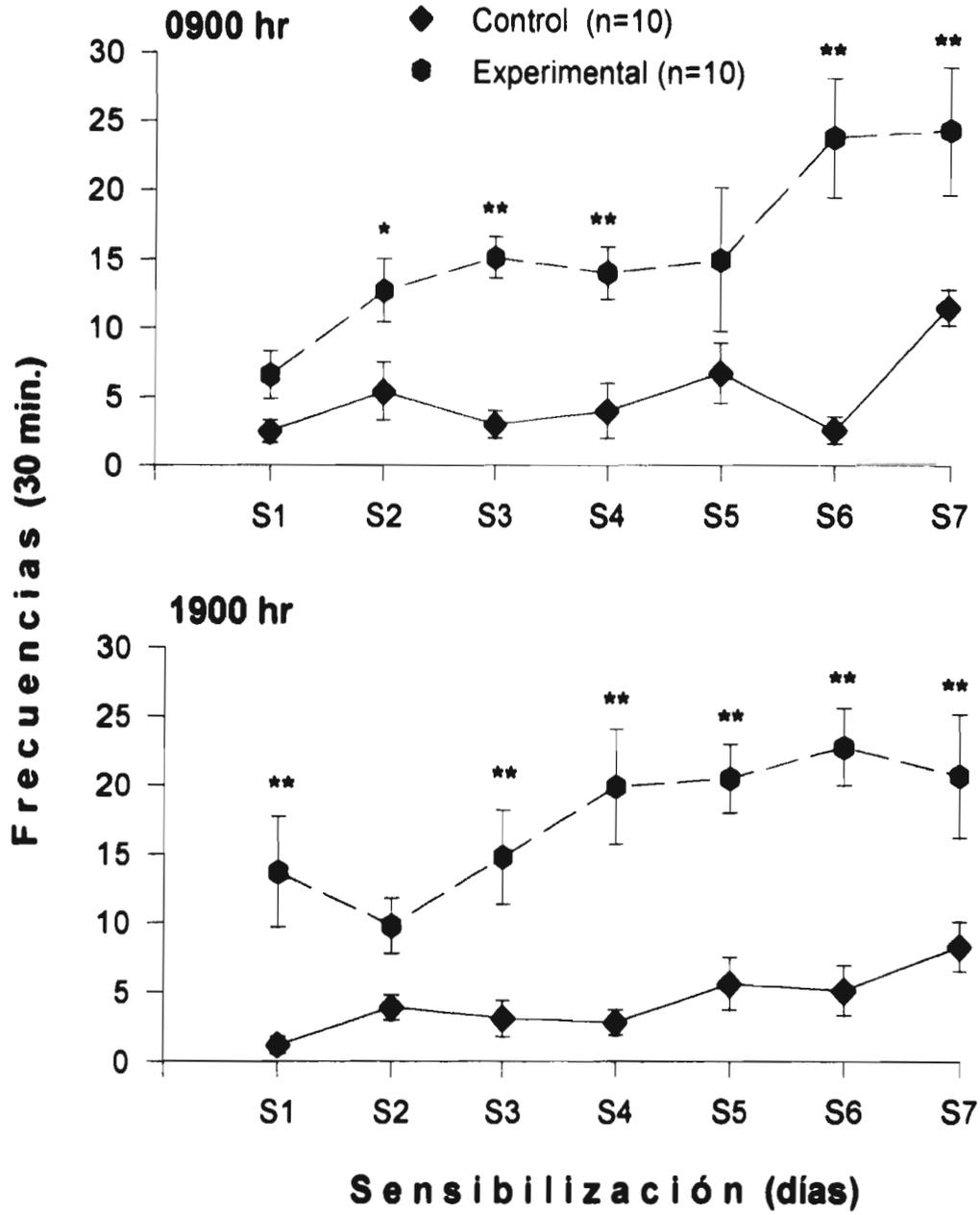


Figura 12.2

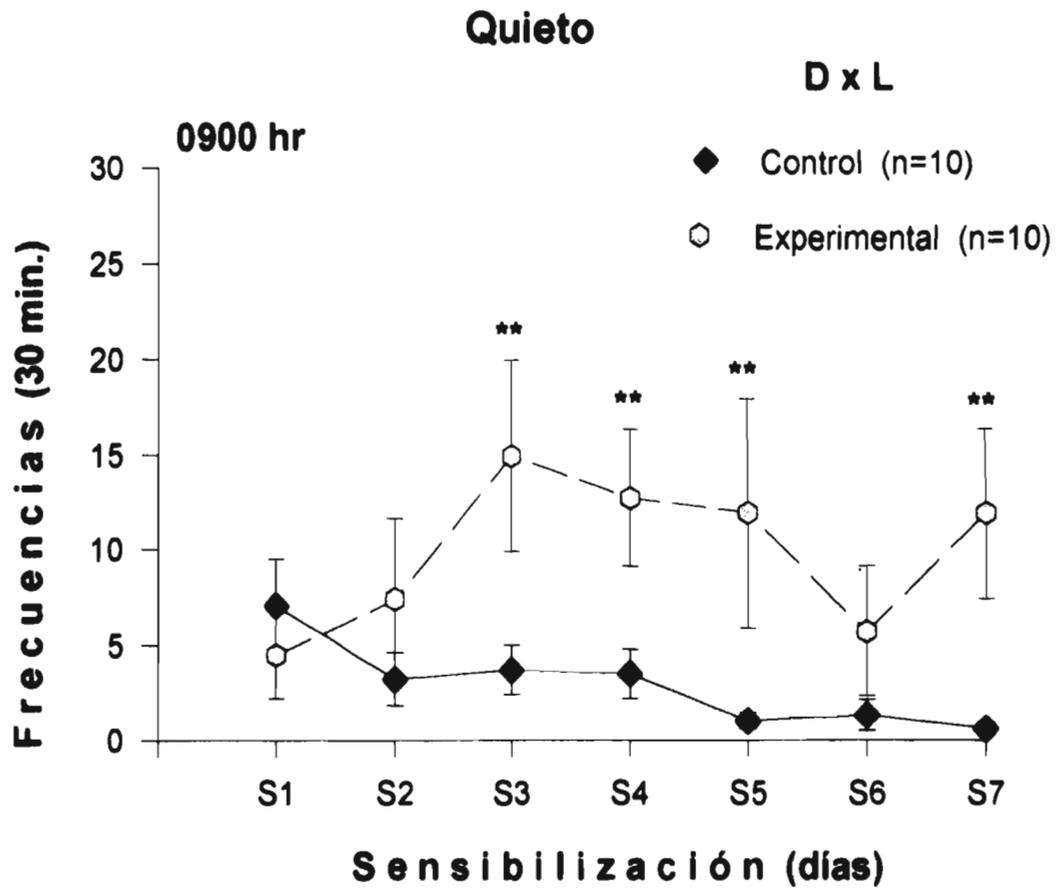


Figura 13.2

Autoaseo En la gráfica superior de la figura 14.2 mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=58.3$ $p<0.005$ para el factor nutricional, una $F(1,6)=7.1$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=4.08$ $p<0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias mostradas por el grupo control son menores que las del grupo experimental para los días S3 y S5 ($p<0.05$, t de Fisher's).

La distribución de las frecuencias de autoaseo en el registro de las 1900 horas se ilustran en el panel inferior de la misma figura. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=23.9$ $p<0.005$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=2.5$ $p<0.05$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=1.62$ $p=0.05$. Las hembras experimentales DxL se asearon más que sus control en los días S1, S3, S4 y S5 ($p<0.05$, t de Fisher's).

Autoaseo

D x L

- ◆ Control (n=10)
- Experimental (n=10)

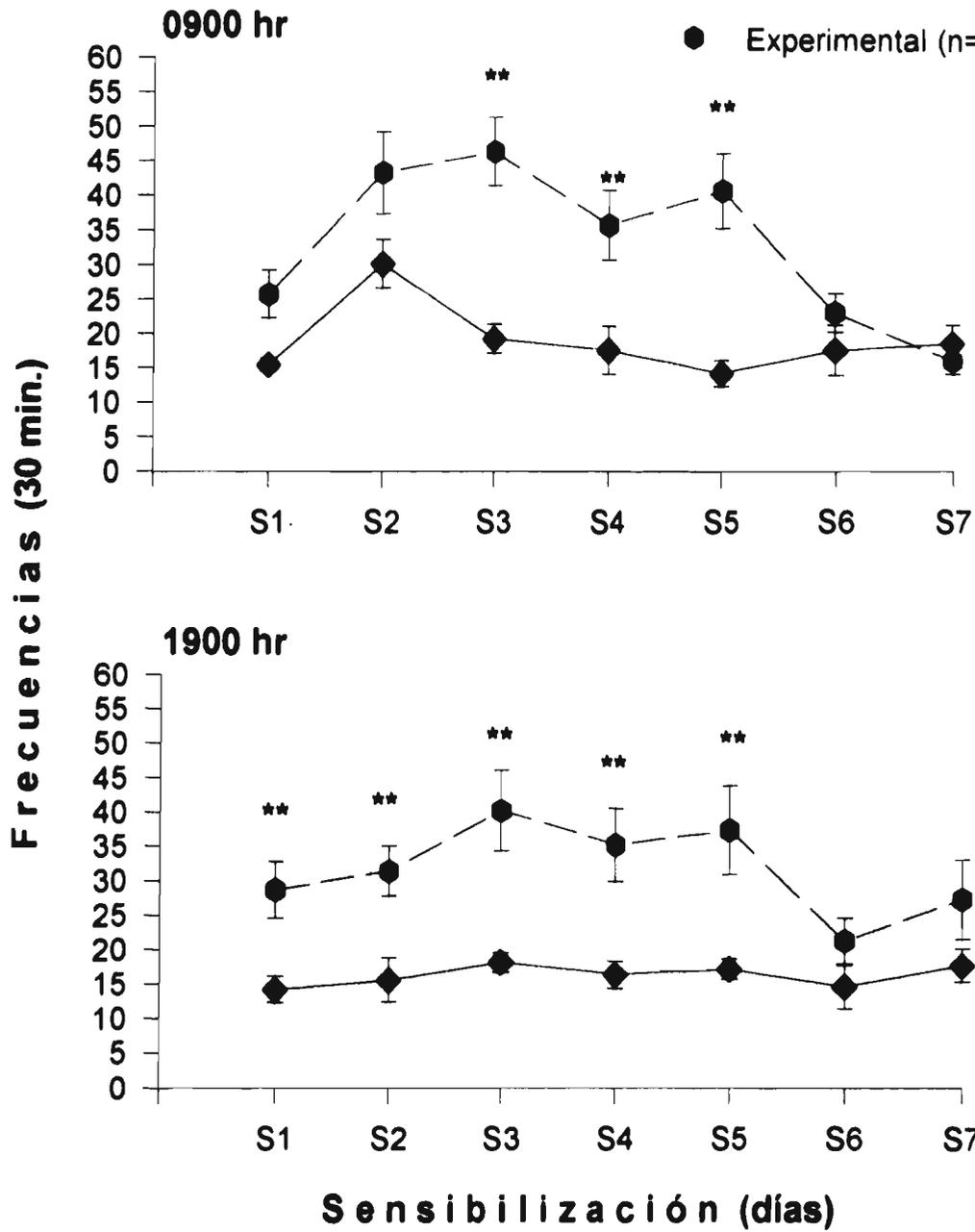


Figura 14.2

TABLA 2.2 RESUMEN DE RESULTADOS EXPERIMENTO 2. D x L

CONDUCTA MATERNAL DURANTE LA SENSIBILIZACION

PARAMETROS	REGISTROS**	
	0900 hr	1900 hr
NUMERO DE CRIAS ACARREADAS	↓	↓
LATENCIAS DE ACARREO	↑	↑
ASEO A LAS CRIAS	↓	↓
ECHADA SOBRE LAS CRIAS	↓	↓
ENTERRAR A LAS CRIAS	—	↑
HUSMEAR A LAS CRIAS	↑	—

****diferencias significativas (ANOVA): los incrementos (↑) o decrementos (↓) son del grupo experimental vs su grupo control.**

TABLA 3.2 RESUMEN DE RESULTADOS EXPERIMENTO 2. D x L

OTRAS CONDUCTAS

PARAMETROS	REGISTROS**	
	0900 hr	1900 hr
EXPLORACION HORIZONTAL	↑	↑
EXPLORACION VERTICAL	↑	—
HUSMEO	↓	—
ROER	↑	↑
QUIETO	↑	—
ASEO	↑	↑

**diferencias significativas (ANOVA): los incrementos (↑) o decrementos (↓) son del grupo experimental vs su grupo control.

Análisis conductual comparativo entre hembras desnutridas por privación del cuidado materno (DxP) y hembras desnutridas al ser cuidadas por madres ligadas de los conductos galactóforos (DxL).

Distribución de la curvas de peso corporal. (Tabla 1.3) Como consecuencia de comparar las curvas de peso corporal entre los grupos de hembras desnutridas encontramos que para las hembras del grupo experimental DxP los valores siempre fueron menores que los registrados para el grupo de desnutrición DxL. El análisis de varianza reportó una $F(1,18)=525.9$ $p<0.0001$ para el factor asociado al tipo de desnutrición, una $F(1,9)=340.4$ $p<0.0001$ para el factor de la edad de los animales, y una $F(1,9)=96.01$ $p<0.0002$ para la interacción de los factores. Así podemos ver claramente que el tipo de desnutrición que más afectó el desarrollo físico de los animales fue el de la desnutrición de la camada privada de la madre y de estimulación sensorial.

Aparición del primer acarreo. Para analizar este evento conductual utilizamos la prueba estadística de Kaplan-Meier dentro del análisis de sobrevivencia. Los resultados obtenidos para analizar la ocurrencia del primer acarreo entre los grupos experimentales de desnutrición no resultó con diferencias significativas $gl(1)=.1628$ $p<0.686$ (ns) para el registro de las 0900 horas (gráfica no incluida).

Cuando el análisis de la ocurrencia del primer acarreo se realiza con lo datos obtenidos para el registro de las 1900 horas, tampoco encontramos diferencias significativas entre los grupos $gl(1)=.591$ $p=.442$ (ns) (gráfica no incluida).

Acarreo de todas las crías en una observación. Los datos revelaron que, para las 0900 horas los valores fueron de $gl(1)=1.48$ $p=.223$ (ns). El acarreo se distribuyó en ambos grupos del día S5 al S7 (gráfica no incluida)

En este mismo evento conductual, al analizar los registros obtenidos a las 1900 horas, tampoco se observaron diferencias asociadas al tipo de desnutrición, $gl(1)=.284$ $p=.519$ (ns) (gráfica no incluida).

Tabla 1.3 **EXPERIMENTO 1 y 2 (D x P vs D x L).**

Peso corporal a lo largo de la lactancia y el crecimiento postnatal de las hembras.
(media±error estandard)

Edad (dias)	D x P (n=10)	D x L (n=10)
5	6.6 ± .35	9.5 ± .4
10	13.8 ± .55	15.2 ± .7
20	19.8 ± .3	37.5 ± .7
30	41.4 ± 1.8	84.2 ± 2.4
40	77.14 ± 2.8	144.5 ± 2.
50	110.1 ± 1.9	209.7 ± 3.3
60	134.9 ± 4.4	260.9 ± 3.8
70	279.1 ± 3.5	290.2 ± 2.4
80	297.5 ± 4	315 ± 2.5
90	323.5 ± 3.2	342.5 ± 3.9

ANOVA. F(1,18)=525.9 p< 0.0001 para el tratamiento; F(1,9)=3340.4 p<0.0001 para la edad; F(1,9)=96.01 p<0.0002 para la interacción.

Número de crías acarreadas. El análisis de varianza reveló que el factor asociado al tratamiento nutricional no provocó diferencias en el número de crías acarreadas durante los registros de las 0900 hr, $F(1,18)=.374$ $p=.548$ (ns). Los valores obtenidos para el cálculo de la varianza asociada a la duración de la sensibilización fueron de $F(1,6)=15.7$ $p<0.005$, mientras que los valores resultantes de la interacción de los factores fueron de $F(1,6)=.33$ $p=.91$ (ns) (gráfica no incluida).

Cuando analizamos el registro de las 1900 hr tampoco encontramos diferencias significativas asociadas al factor del tipo de desnutrición $F(1,18)=.09$ $p=.75$ (ns) (gráfica no incluida).

Latencias de acarreo. El análisis (ANOVA) para comparar las latencias entre los grupos de experimentales de desnutrición, a las 0900 hr, reveló diferencias significativas asociadas al factor nutricional $F(1,34)=2.5$ $p=.117$ (ns). El factor duración de la sensibilización obtuvo valores de $F(1,6)=4.4$ $p<0.005$ y a la interacción entre ambos fue de $F(1,6)=1.4$ $p=.18$ (ns) (gráfica no incluida).

En la gráfica de la figura 1.3, observamos la distribución de las latencias de acarreo en los registros de las 1900. Los valores del ANOVA para el factor nutricional fueron de $F(1,40)=3.78$ $p=0.058$ (ns); para el factor de duración de la sensibilización se obtuvo una $F(1,6)=22.8$ $p<0.005$, mientras que la interacción obtuvo una $F(1,6)=7.16$ $p<0.005$. Los asteriscos de la gráfica ilustran que sólo para el día S7 se obtuvieron significancias de $p<0.05$ (t de Fisher's), siendo los valores del grupo DxP más altos que los del grupo DxL.

Aseo a las crías. Encontramos que durante el registro de las 0900 horas, los valores estadísticos asociados al factor nutricional fueron de $F(1,18)=1.82$ $p=.193$ (ns). Los valores para la duración de la sensibilización fueron de $F(1,6)=2.74$ $p<0.005$, mientras que los valores para la interacción fueron de $F(1,6)=.375$ $p=.89$ (ns) (gráfica no incluida).

En el registro de las 1900 horas (gráfica de la figura 2.3) se encontró que para el factor nutricional obtuvimos una $F(1,18)=16.6$ $p<0.05$, para el factor asociado a los días de sensibilización fue de $F(1,6)=16.3$ $p<0.005$, mientras que para la interacción se obtuvo una

Latencias de acarreo

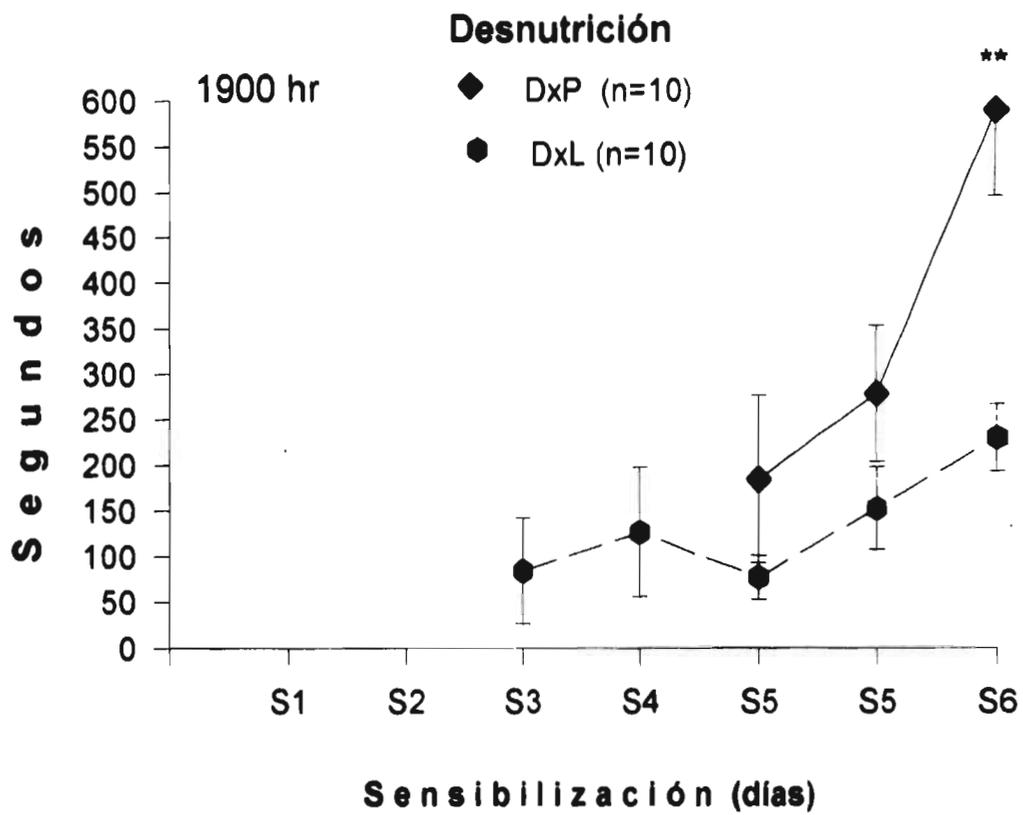


Figura 1.3

Aseo a las crías

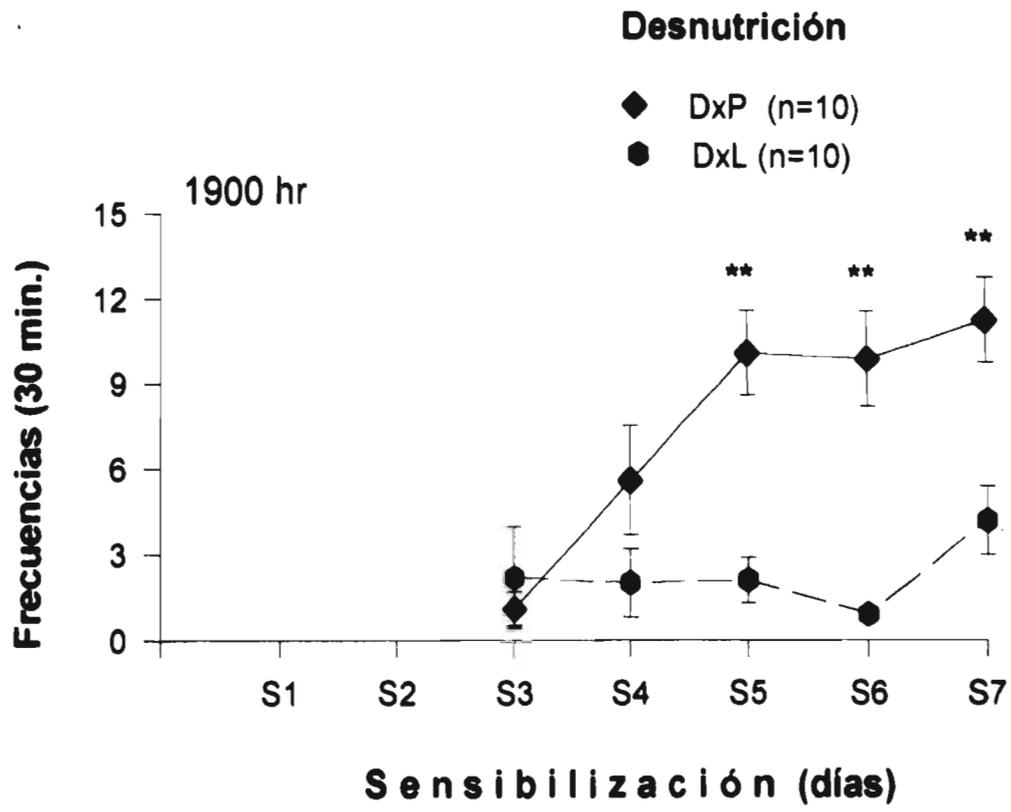


Figura 2.3

$F(1,6)=7.8$ $p<0.005$. En la gráfica inferior observamos que para los días S5, S6 y S7 el aseo a las crías realizado por las hembras desnutridas DxP fue menor que el realizado por las hembras desnutridas DxL ($p<0.05$, t de Fisher's en cada caso).

Echada sobre la crías. (0900 hr) El análisis de varianza describió una $F(1,18)=2.24$ $p=.641$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=16.8$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=.147$ $p=.989$ (ns) para la interacción (gráfica no incluida).

De las frecuencias obtenidos en el registro de las 1900 horas tenemos ahora que el factor nutricional tiene una $F(1,18)=.23$ $p=0.636$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=12.18$ $p<0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=.438$ $p=0.851$ (ns) (gráfica no incluida).

Enterrar a las crías. Para los registros de las 0900 horas el ANOVA describió una $F(1,18)=1.67$ $p=0.212$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=4.48$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=2.33$ $p=0.05$ para la interacción (gráfica no incluida).

Cuando analizamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, gráfica de la figura 3.3 notamos que el factor nutricional tiene una $F(1,18)=4.10$ $p=0.057$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=3.5$ $p<0.05$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=4.4$ $p<0.005$. Los asteriscos indican que los valores del grupo experimental DxL estuvieron significativamente más elevados para los días S5 ($p<0.01$) y S7 ($p<0.05$, t de Fisher's).

Husmear a las crías. En la gráfica superior de la figura 4.3, mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=4.35$ $p<0.051$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=17.1$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=9.9$ $p<0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica que en los días S4 y S5 las frecuencias del grupo experimental DxP se elevaron significativamente ($p<0.01$, t de Fisher's).

Enterrar a las crías

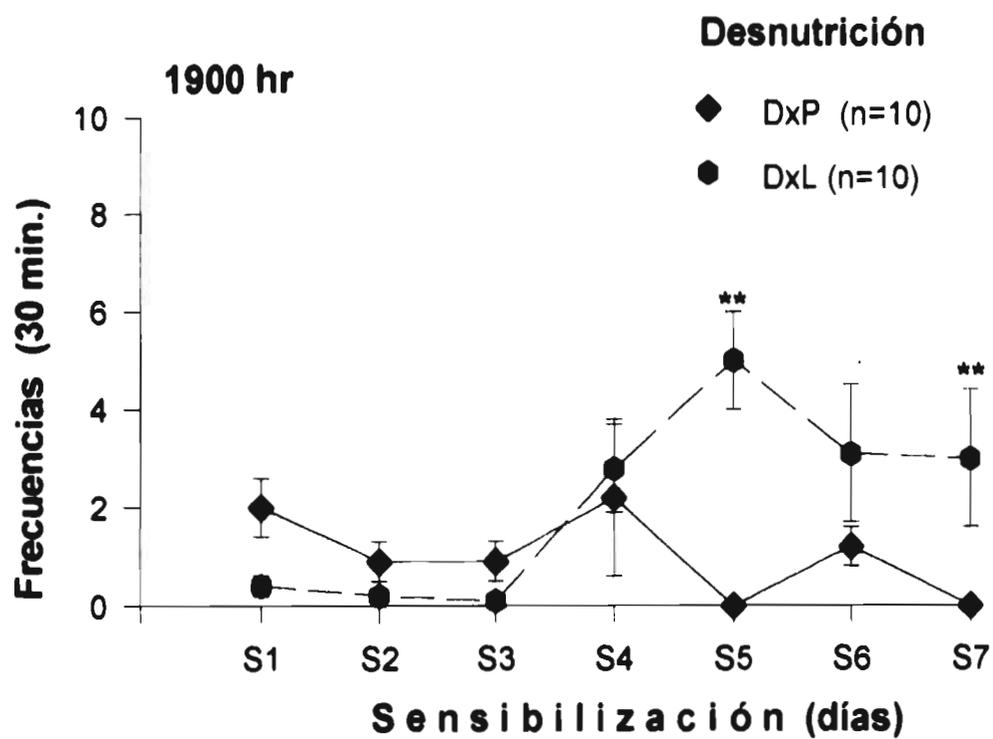


Figura 3.3

Husmear a las crías

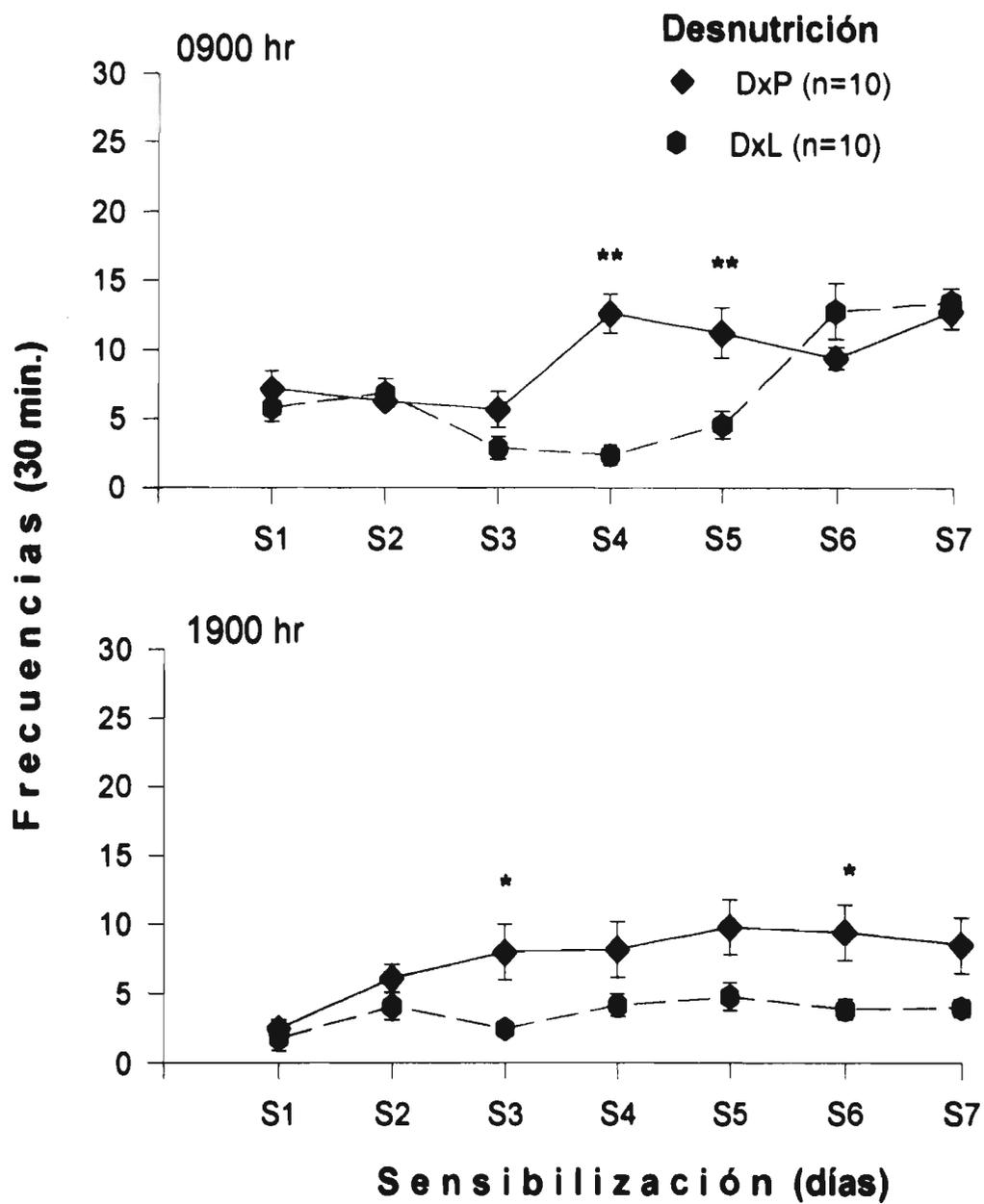


Figura 4.3

Cuando analizamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, gráfica inferior de la figura 4.3, notamos que el factor nutricional tiene una $F(1,18)=5.2$ $p<0.05$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=3.48$ $p<0.05$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=1.05$ $p=0.39$ (ns). Los asteriscos indican que los valores del grupo experimental DxP estuvieron significativamente más elevados para los días S3 y S6 ($p<0.05$, t de Fisher's).

Manipular a las crías. Para las escasas frecuencias obtenidas durante el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=3.37$ $p=0.067$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=8.16$ $p<0.005$ (ns) para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=0.840$ $p<0.54$ (ns) para la interacción (gráfica no incluida).

Cuando analizamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, gráfica de la figura 5.3, notamos que el factor nutricional tiene una $F(1,18)=15.9$ $p<0.005$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=11.38$ $p<0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=7.52$ $p<0.005$. Los asteriscos indican que los valores del grupo experimental DxP estuvieron significativamente más elevados en los días S5, S6 y S7 ($p<0.01$, t de Fisher's).

Escarbar. Para la distribución de las escasas frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas el ANOVA describió una $F(1,18)=0.23$ $p=0.879$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=3.95$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=2.23$ $p<0.05$ para la interacción (gráfica no incluida).

Cuando analizamos la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas, el factor nutricional obtuvo una $F(1,18)=0.23$ $p=0.87$ (ns) Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=3.95$ $p<0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=2.23$ $p<0.05$ (gráfica no incluida).

Exploración Horizontal. El análisis (ANOVA) de la distribución de las escasas frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas, describió una $F(1,18)=1.97$ $p=0.17$ (ns) para el

Manipular a las crías

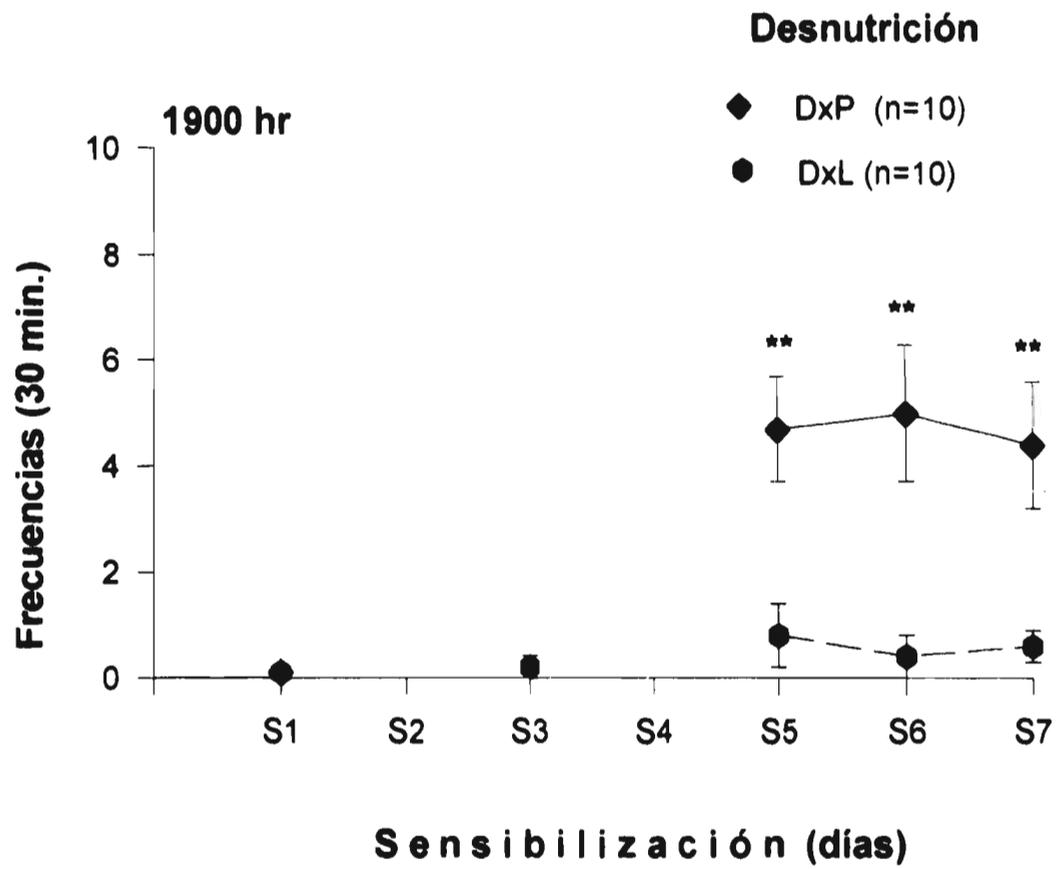


Figura 5.3

factor nutricional; una $F(1,6)=3.3$ $p<0.05$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=2.81$ $p=0.05$ para la interacción (gráfica no incluida).

La distribución de las frecuencias obtenidas en el registro de las 1900 horas se ilustran en la gráfica de la figura 6.3. El factor nutricional obtuvo una $F(1,18)=11.9$ $p<0.005$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=5.6$ $p<0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=6.5$ $p<0.005$. Los valores del grupo experimental DxP estuvieron significativamente elevados en los días S2, S3 y S5 ($p<0.05$, t de Fisher's).

Exploración vertical. Analizando (ANOVA) la distribución de las frecuencias obtenidas para esta conducta (0900 hr) obtuvimos una $F(1,18)=.057$ $p=.81$ (ns) para el factor nutricional, una $F(1,6)=3.12$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización y una $F(1,6)=.872$ $p<0.517$ (ns) para la interacción (gráfica no incluida)

La distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas se ilustran en la gráfica de la figura 7.3. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=.43$ $p=.516$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=2.2$ $p<0.05$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=3.2$ $p<0.005$. Los asteriscos colocados sobre la curva nos indican que los análisis posteriores revelaron que para los días S2 y S4, los valores del grupo experimental DxL fueron mayores a los del grupo de desnutrición DxP ($p<0.01$ y $p<0.05$ respectivamente, t de Fisher's).

Husmeo. En la gráfica superior de la figura 8.3, mostramos la distribución de las frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=6.82$ $p<0.05$ para el factor nutricional; una $F(1,6)=3.83$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=5.69$ $p<0.005$ para la interacción. Observamos en la gráfica que las frecuencias mostradas por el grupo experimental DxL, para los días S1 ($p<0.01$), S2 y S4 se registraron más altas que en el grupo DxP ($p<0.05$, t de Fisher's).

La distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 hr se ilustran en el panel inferior de la misma figura. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=13.1$ $p<0.005$. Para los

Exploración horizontal

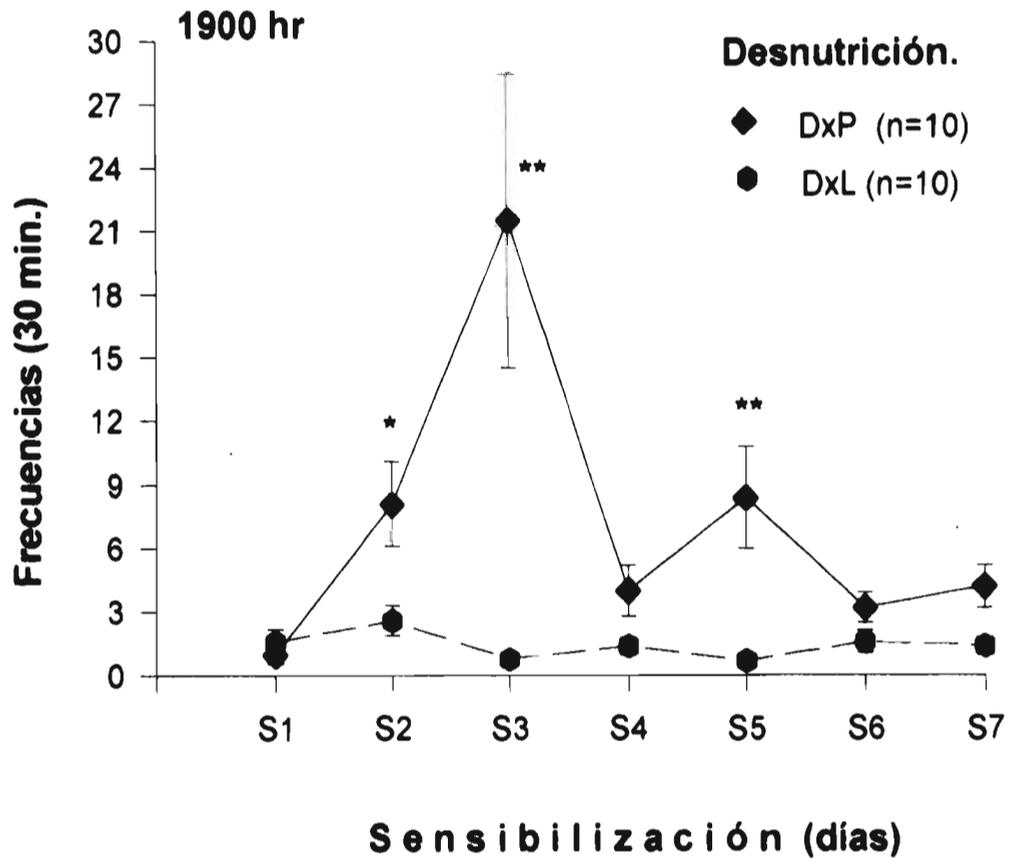


Figura 6.3

Exploración vertical

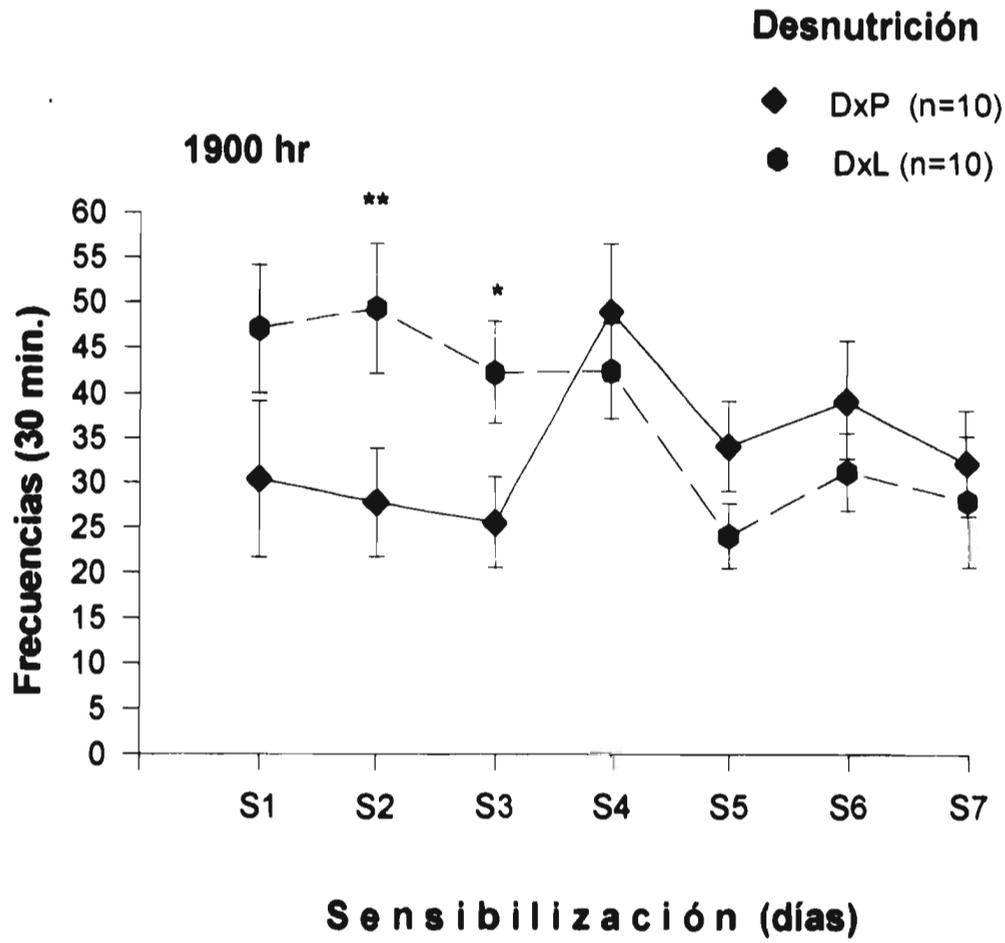


Figura 7.3

Husmeo

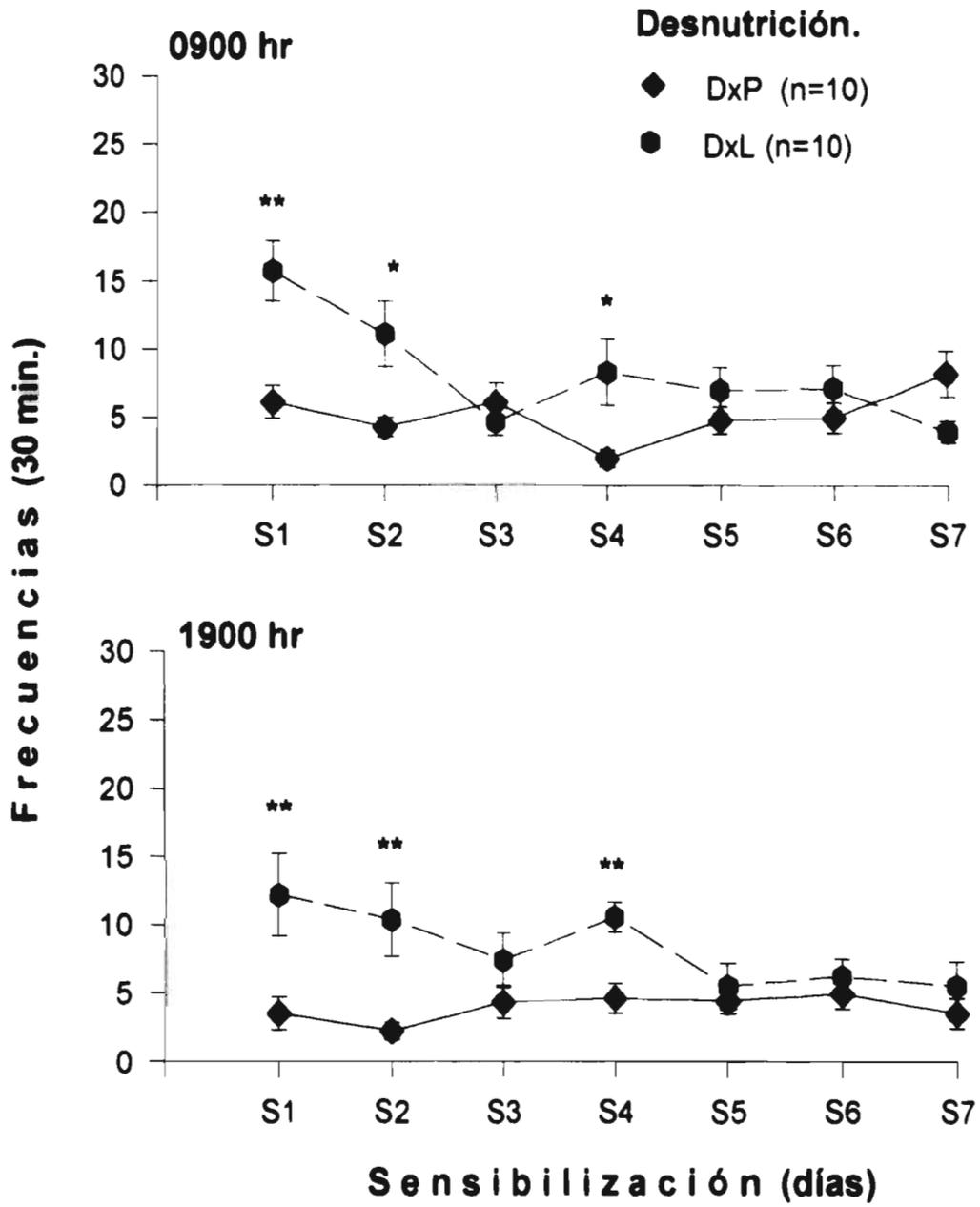


Figura 8.3

días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=1.2$ $p<0.05$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=2.2$ $p<0.05$. De manera similar al registro de las 0900 horas, los valores del grupo experimental DxL estuvieron significativamente elevados para los días S1, S2 y S4 ($p<0.05$, t de Fisher's)

Roer. El análisis de las frecuencias registradas (ANOVA) obtuvo una $F(1,18)=0.14$ $p=.906$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=7.1$ $p<0.005$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=1.34$ $p=.2311$ (ns) para la interacción (gráfica no incluida)

De la distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas encontramos para el factor nutricional una $F(1,18)=1.6$ $p=0.214$ (ns). Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=4.8$ $p<0.005$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=1.07$ $p<0.379$ (ns) (gráfica no incluida).

Quieto. En la gráfica 9.3, mostramos la distribución de frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas. El ANOVA describió una $F(1,18)=8.9$ $p<0.005$ para el factor nutricional, una $F(1,6)=1.17$ $p=0.326$ (ns) para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=.849$ $p=.534$ (ns) para la interacción. En la gráfica superior, indicados con asteriscos se encuentran los días (S3 y S7) en los cuales las hembras experimentales DxL mostraron frecuencias más altas ($p<0.05$, t de Fisher's)

La distribución de las frecuencias en el registro de las 1900 horas se ilustran en el panel inferior de la misma figura. El factor nutricional tiene una $F(1,18)=5.19$ $p<0.05$. Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=.24$ $p=.958$ (ns), mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=.64$ $p=0.693$ (ns).

Autoaseo. El análisis (ANOVA) de las frecuencias obtenidas para el registro de las 0900 horas describió una $F(1,18)=.0058$ $p<0.095$ (ns) para el factor nutricional; una $F(1,6)=2.81$ $p<0.05$ para el factor duración de la sensibilización, y una $F(1,6)=5.36$ $p=0.05$ para la interacción (gráfica no incluida).

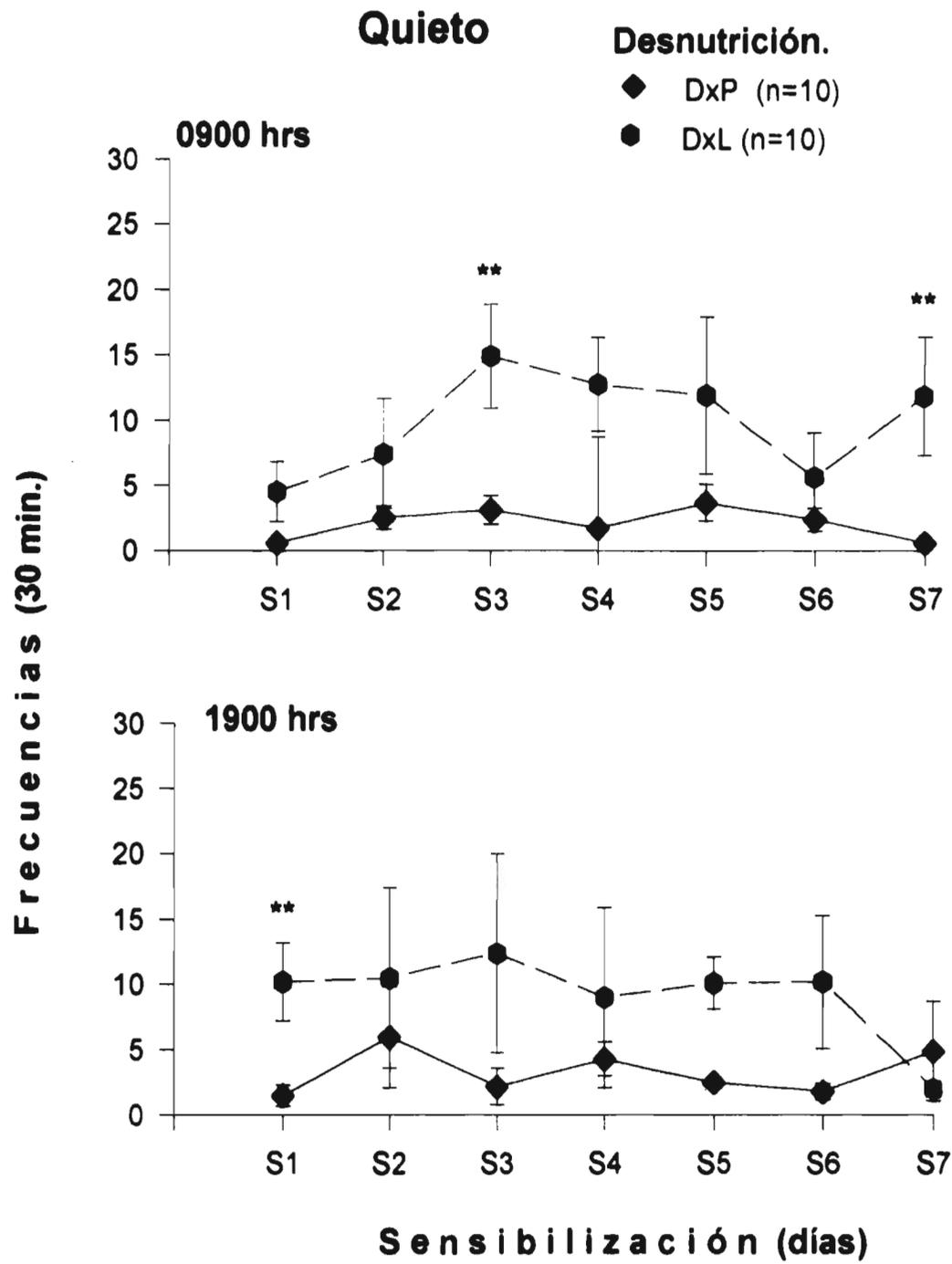


Figura 9.3

Para el registro de las 1900 horas, el factor nutricional tuvo una $F(1,18)=.61$ $p=0.44$ (ns).
Para los días de sensibilización encontramos una $F(1,6)=2.9$ $p<0.05$, mientras que para la interacción encontramos una $F(1,6)=2.3$ $p=0.05$ (gráfica no incluida).

TABLA 2.3 RESUMEN DE RESULTADOS

COMPARACION D x P vs. D x L

CONDUCTA MATERNAL DURANTE LA SENSIBILIZACION

PARAMETROS	REGISTROS	
	0900 hr	1900 hr
LATENCIAS DE ACARREO	—	D x P ↑
ASEO A LAS CRIAS	—	D x P ↑
ENTERRAR A LAS CRIAS	—	D x L ↑
HUSMEAR A LAS CRIAS	D x P ↑	D x P ↑
MANIPULAR A LAS CRIAS	—	D x P ↑

**diferencias significativas (ANOVA): los incrementos (↑) o decrementos (↓) son del grupo experimental vs su grupo control.

TABLA 3.3 RESUMEN DE RESULTADOS **COMPARACION D x P VS. D x L.**

OTRAS CONDUCTAS

PARAMETROS	REGISTROS**			
	0900 hr		1900 hr	
EXPLORACION HORIZONTAL	—		D x P	↑
EXPLORACION VERTICAL	—		D x P	↑
HUSMEO	D x L	↑	D x L	↑
QUIETO	D x P	↑	D x P	↑

**diferencias significativas (ANOVA): los incrementos (↑) o decrementos (↓) son del grupo experimental vs su grupo control.

DISCUSION

Experimentos 1 y 2.

Los resultados obtenidos en los experimentos de desnutrición, provocada tanto por privación del cuidado materno (DXP -Exp. 1), como por cuidado de las crías por hembras ligadas de los conductos galactóforos (DxL -Exp 2), mostraron consistentemente que, tanto para las pruebas de las 0900 como para las de las 1900 horas, las hembras adultas experimentales, rehabilitadas nutricionalmente, tuvieron durante la sensibilización una marcada alteración en la expresión de la conducta maternal de acarreo.

Estas alteraciones se caracterizaron por retardos significativos en el número de días que las hembras experimentales DxP y DxL, necesitaron para mostrar tanto el primer acarreo, como el acarreo de todas las crías que con ellas cohabitaron. Del mismo modo, una vez que estos eventos conductuales se presentaron, las latencias para ejecutarlos se elevaron significativamente y encontramos que, el número de crías acarreadas por las hembras experimentales DxP y DxL fue menor.

Para discernir la influencia de los efectos de la desnutrición con o sin privación de cuidados maternos, analizamos comparativamente la conducta maternal de acarreo en los grupos experimentales (DxP vs DxL), encontramos que no hubo cambios importantes para las conductas maternas de acarreo y que pudieran asociarse a una estimulación diferencial durante la lactancia. De tal modo podemos proponer que la desnutrición durante la lactancia, con o sin privación de los cuidados maternos, produce alteraciones similares en la conducta maternal de acarreo. Es importante señalar que el único parámetro que se alteró de manera diferencial entre los grupos de desnutrición fueron las latencias de acarreo; en el grupo experimental DxP el registro de las 1900 horas reveló mayores latencias para ejecutar el acarreo de las crías.

Hasta el presente, no existía en la literatura ninguna evidencia de que la conducta maternal de acarreo a las crías, podía modificarse significativamente en el modelo de sensibilización maternal de hembras adultas desnutridas por privación del cuidado materno o privación de la ingesta de leche durante la lactancia. Si bien, diversos reportes de investigación ya habían descrito las alteraciones en estos parámetros conductuales en

hembras adultas que habían tenido sus camadas después del periodo normal de gestación y el parto, y que habían sido desnutridas previamente, durante o en ambas etapas reproductivas.

En efecto, utilizando diversas técnicas de desnutrición, en diferentes etapas de la vida reproductiva, diversos trabajos habían mostrado que las hembras privadas de proteína o desnutridas por reducción en la ingesta de alimento, muestran retardo y pobre ejecución en el acarreo (Franková, 1971; Smart y Prece, 1973; Smart, 1976, Smart, 1983, Crnic, 1976, Wiener y col., 1977; Salas, 1984, Regalado, 1993). Mostrándose en las pruebas de acarreo de crías, previamente removidas del nido y dispersadas por el investigador, que el acarreo de las madres control se hacia más rápido y eficiente conforme avanzaba la lactancia, contrariamente al de las desnutridas que más se retardaba y deterioraba. Estas últimas características del acarreo también las observamos en el presente estudio.

Es muy pertinente señalar que, particularmente para los experimentos anteriores, Wiener y col., 1977, propusieron que el deterioro gradual de la conducta de acarreo en las hembras desnutridas, tenia como causa asociada la pobre capacidad de las hembras para reaccionar ante la situación experimental de retirar a las crías del nido antes de la prueba. En nuestro estudio, esta maniobra fue también realizada. Así, es importante considerar que nuestras hembras pudieron tener también una pobre adaptación a la situación experimental, deteriorándose más su estado emocional y por lo tanto afectando su capacidad para mostrar atención hacia las crías y CM.

Los hallazgos del deterioro de la conducta maternal de acarreo fueron corroborados por nuestro grupo de investigación, pero ahora los hemos confirmado estudiando hembras desnutridas durante su desarrollo (lactancia) y posteriormente rehabilitadas nutricionalmente, hasta por periodos de 70 días previos a su evaluación (Regalado, 1993; Salas, y col., 1984). De tal modo mostramos que los parámetros de la CM de acarreo pueden deteriorarse a largo plazo en las hembras.

En el presente estudio, mostramos que los efectos a largo plazo sobre la CM de acarreo también son apreciables cuando se someten a la sensibilización maternal, hembras adultas rehabilitadas nutricionalmente, después de sufrir privación de la madre y del alimento durante la lactancia.

Ahora bien, no tan sólo encontramos retardos importantes en la conducta maternal de acarreo, sino también que los grupos de desnutrición mostraron frecuencias menores de la postura de permanecer echada sobre las crías. Este hallazgo también se ha descrito cuando se estudia la CM durante la lactancia de hembras afectadas por periodos de desnutrición en diferentes etapas de la vida. Smart y col., 1972, describieron que el número de hembras desnutridas que se encontraban sobre sus crías en el nido al momento de iniciarse las pruebas de CM era significativamente menor a los de las control. Esta menor proporción fue descrita para todos los registros de CM realizados por este grupo (a las 0900, 1300 y 1700 horas). Nosotros también encontramos que independientemente de la hora del registro (0900 ó 1900 horas) las hembras se echaban menos sobre sus crías.

De manera contrastante, Wiener y col., 1976, al describir la CM de hembras sometidas a desnutrición durante la gestación y la lactancia, encontraron que las hembras pasaban más tiempo echadas sobre sus crías y que aún no mostraban la reducción gradual de este parámetro conforme avanzaba la lactancia. En este particular estudio los autores encontraron que el pobre desarrollo motor y sensorial de las crías de madres agudamente desnutridas había provocado que la conducta de echada sobre las crías tuviera esta distribución de frecuencias elevadas a lo largo del tiempo. Esta posibilidad fue confirmada más tarde (Smart, 1983).

En el presente trabajo estudiamos también, dentro de la expresión de la conducta maternal, otras conductas que necesitan del contacto hembra-cría como el aseo (lamido) a las crías. En esta conducta encontramos que mientras los animales experimentales del grupo DxP no mostraron cambios en su ejecución, el grupo experimental DxL al ser comparado contra su control, mostró ejecuciones más bajas de esta conducta. Cuando comparamos a las hembras rehabilitadas provenientes de los grupos de desnutrición DxP vs DxL encontramos que sólo para el registro de las 1900 horas las hembras DxP mostraron mayores frecuencias de aseo a las crías.

En general se ha visto que durante el lamido de las crías, que se realiza durante la lactancia de los neonatos, las madres lamen preferentemente la región anogenital de las crías (Gubernick y Alberts, 1983). Diversos trabajos han demostrado que este lamido o aseo se asocia tanto a la percepción de estímulos olorosos, provenientes de la región anogenital de

las crías, como a la cantidad de líquido que la madre puede ingerir provocando con su lamido la micción de las crías (Gubernick y Alberts , 1983).

Smart y Preece., 1973, mostraron que la desnutrición de hembras durante el periodo de gestación produce la reducción en el número de lamidos dirigidos hacia las crías durante la lactancia. Los resultados obtenidos por este grupo son poco comparables con los nuestros, ya que son dos modelos de conducta maternal diferentes. No obstante, nuestros resultados mostraron que sólo el grupo DxL fue el que tuvo menores frecuencias de esta conducta.

Por lo que respecta a otros parámetros conductuales asociados a la interacción hembras-crias, encontramos que en general, comparándolas contra sus respectivos control, las hembras rehabilitadas en ambos grupos experimentales, tuvieron mayores frecuencias de la conducta de manipulación de crías durante las pruebas registradas. La excepción fueron las pruebas de las 0900 horas en el grupo DxP, para las cuales registramos un decremento en la conducta de manipulación de crías. Es probable que la alteración en el estado emocional de las hembras desnutridas, ampliamente descrito ante diversas situaciones estresantes (Salas y Cintra, 1979) haya provocado que esta conducta se alterara.

Cuando comparamos los posibles efectos de una desnutrición ausente de cuidados maternos (DxP) y una con cuidados maternos (DxL) encontramos que la manipulación de las crías tuvo frecuencias más altas en el grupo de desnutrición DxP en ambos registros, esto es las alteraciones derivadas de la privación del cuidado materno incrementaron la manipulación de las crías. De manera similar, nuestros datos mostraron que al ser comparadas con sus respectivos control, las hembras experimentales DxP y DxL , en ambos registros, mostraron que husmeaban más a las crías. Antes y durante los eventos de manipulación aquí reportados es muy común observar que las hembras husmean a las crías, de tal modo que creemos que el aumento de manipulaciones pudiera estar asociado al aumento de husmeo a las crías que los grupos de desnutrición mostraron.

Es muy importante señalar que es la primera vez que se reporta que las hembras adultas rehabilitadas nutricionalmente y cursando por un periodo de sensibilización maternal muestran elevadas frecuencias de manipulación y husmeo de las crías. Esto iría en contra de

lo que hasta ahora se había reportado en hembras adultas desnutridas, donde repetidamente se han descrito que tiene una actividad de apatía y desinterés hacia crías de corta edad (Smart, 1983).

Por el momento, es difícil proponer una explicación adecuada a estos hallazgos, parece claro que la desnutrición provocó alteraciones similares independientemente del método de desnutrición empleado. Si bien se ha sugerido que los efectos de la desnutrición son más severos cuando ésta se acompaña de privación sensorial y/o del aislamiento con la madre (Salas, 1995), las comparaciones entre nuestros métodos de desnutrición no otorgan diferencias significativas claras a favor de algún procedimiento. Se pudiera pensar que lo que estamos observando en nuestras hembras experimentales es principalmente el efecto de la desnutrición, más que los efectos provocados por la privación de la interacción madre-crias.

Hasta no tener claras evidencias de lo anterior lo inverso también es cierto; no obstante el haber sido cuidadas por hembras ligadas o ser puestas en aislamiento en un incubador, los efectos de la privación del cuidado materno en ambos grupos producen déficits similares y por ello no observamos diferencias notorias entre los animales de los grupos de desnutrición.

Asociadas al empobrecimiento de la conducta maternal mostrada por las hembras desnutridas a lo largo de la sensibilización, encontramos que las hembras experimentales de los grupos DxP y DxL mostraron mayores frecuencias de conductas que se podían considerar de rechazo o evitación del contacto con las crías, como la conducta de enterramiento de las crías. Esta conducta que también por vez primera se describe en el contexto de la conducta maternal mostrada por sensibilización, tuvo como función el que las hembras ocultaran a las crías al cubrirlas con aserrín. En este sentido diversos trabajos de investigación han descrito una conducta de enterramiento de objetos, y si bien no es formalmente igual a la del enterramiento de las crías, produce los mismos resultados, ocultar los objetos que de alguna manera se postula generan estados de estrés o ansiedad en los animales (Broekkamp y col., 1989).

La conducta de enterramiento de objetos, usada ampliamente para estudios farmacológicos con ansiolíticos, se describe cuando los animales con sus patas delanteras entierran el o los objetos extraños que han sido introducidos en sus cajas.

En nuestro estudio, describimos la conducta de enterrar a las crías cuando las hembras con sus patas traseras, o delanteras, desplazan el aserrín necesario para que las crías queden por debajo de él. Así, podemos decir que como consecuencia de los elevados estados de ansiedad que las crías les generan a las hembras rehabilitadas nutricionalmente, se produce el ocultamiento de los neonatos con aserrín (considerándose entonces que la hembra los identifica como objetos extraños a su ambiente).

Por lo que concierne a las conductas no necesariamente dirigidas hacia las crías, pero realizadas durante las observaciones de la sensibilización, encontramos diferencias importantes provocadas por la desnutrición de las hembras durante la lactancia. Así cuando analizamos las frecuencias de la conducta de Exploración Vertical -EV-, encontramos que este tipo de exploración se presentó más en los animales desnutridos del grupo DxP, solo para el registro de las 1900 horas; las hembras DxL no mostraron diferencias con respecto de su control. Cuando analizamos la EV teniendo como factor de variación entre los grupos el tipo de desnutrición asignada (ésto es DxP o DxL), encontramos que para las hembras desnutridas DxL esta exploración se aumento sólo en los registros de las 1900 horas. Por lo que se pudiera pensar que ambos tipos de desnutrición provocaron efectos similares sobre la ejecución de la EV a lo largo de la sensibilización.

Una conclusión unánime, derivada de los estudios que emplean la prueba de acarreo de crías previamente dispersadas es que las hembras malnutridas se ocupan exageradamente en realizar conductas no necesariamente maternas (Franková, 1971; Smart y Preece, 1973; Smart, 1976; Crnic, 1976; Smart, 1983). En particular se ha encontrado que tienen frecuencias muy altas en la ejecución de la conducta de EV (rearing) (Smart, 1983). En nuestros resultados también mostramos la elevación de las frecuencias de la exploración vertical para los dos grupos experimentales DxP y DxL en los registros de las 0900 y las 1900 horas. Así tenemos que esta conducta por sí misma podría ser la consecuencia de la reducción de conductas maternas: la hembra al estar apoyada sobre las paredes laterales de la caja no tendría oportunidad de poner atención a las crías que están alojadas dentro de su

caja. Otra posibilidad de interpretación de la conducta de EV, propone que aparte de ser exploratoria, es una conducta que indicaría excitabilidad en el animal (Láts, 1965)

Cuando realizamos la comparación de este patrón de exploración entre los grupos de desnutrición obtuvimos diferencias sólo en el registro de las 1900 horas, cuando las hembras rehabilitadas del grupo de desnutrición DxL tuvieron mayores frecuencias de EV que las hembras experimentales DxP. Así entonces podemos decir, de manera general, que los procedimientos de desnutrición empleados tuvieron efectos similares sobre este patrón conductual.

Por otro lado la conducta de Exploración horizontal - EH- también se incrementó en las hembras experimentales, al ser comparadas con sus respectivos control encontramos una elevación de las frecuencias de EH para los registros de las 0900 horas y las 1900 horas. La excepción fue el registro de las 1900 horas, donde las hembras DxL no mostraron diferencias con respecto a su control. Cuando analizamos la probable consecuencia de la privación de cuidado materno, comparando a las hembras experimentales DxP con las experimentales DxL, encontramos que sólo en el grupo DxP las frecuencias mostradas de exploración horizontal a las 0900 fueron mayores.

Diversos reportes de investigación han mostrado tanto aumentos (Watson, 1976) como decrementos (Winick, 1979) en la conducta exploratoria de los animales desnutridos. Nosotros encontramos que la EH, una conducta ambulatoria, que tiene como función la de explorar el medio circundante se aumentó en las hembras experimentales rehabilitadas. Y no tan sólo esta conducta exploratoria se aumentó si no también la de EV. De lo anterior es claro que en el contexto de la sensibilización las conductas exploratorias de las hembras desnutridas aumentan su frecuencia.

Otro hallazgo de alteraciones conductuales importantes es la diferencia en las frecuencias de autoaseo mostrado por las hembras experimentales durante la sensibilización. Encontramos que, tanto para los registros de las 0900 como para las 1900 horas, las hembras desnutridas experimentales al ser comparadas con sus respectivos control mostraron mayores frecuencias de autoaseo. Cuando realizamos las comparaciones

pertinentes para discriminar el efecto de los diferentes tratamientos de desnutrición encontramos que no hubo diferencias significativas en el aseo mostrado por las hembras desnutridas entre los grupos de desnutrición D_xP vs D_xL.

Diversos reportes de investigación han asociado los incrementos de ejecución del autoaseo con aumento en las respuestas emocionales (Sachs, 1988). Particularmente se ha sugerido que esta conducta se incrementa cuando los animales son expuestos en ambientes novedosos o ante la presencia de situaciones que generan excitabilidad en los animales (Jolles y col., 1979).

Nuestro grupo de investigación, analizando la ejecución de los componentes del autoaseo en ratas adultas desnutridas durante la lactancia y ya en plena etapa de rehabilitación nutricional, mostró que las frecuencias de autoaseo estaban aumentadas (Salas y col. 1991). Propusimos que como consecuencia de la desnutrición postnatal, los circuitos subyacentes al control de esta conducta se habían alterado durante su maduración y también subrayamos la posibilidad de que existieran alteraciones en esta conducta asociadas a daños en la coordinación motora de los animales desnutridos tal y como se había propuesto en otros reportes (Bass y col., 1970; McConell y Berry, 1978)

La posibilidad de que las alteraciones producidas en el autoaseo se deban a disrupciones en la interacción madre-crias, asociadas a los tratamientos de desnutrición (Salas y col., 1984; Smart y col., 1983) no es muy clara en nuestros resultados, ya que los dos tratamientos de desnutrición empleados en este estudio afectaron de manera similar las frecuencias de autoaseo.

Si bien se ha sugerido que el control de la expresión de la conducta de autoaseo está también regulada por aspectos emocionales (Jolles y col., 1979) no debemos descartar que el alto estado de emotividad asociado a los efectos de la desnutrición (Escobar, 1992) haya contribuido a los aumentos de autoaseo en las hembras rehabilitadas nutricionalmente.

De manera muy similar a la descripción anterior, encontramos que las hembras desnutridas, al ser comparadas con sus respectivos control mostraron mayores frecuencias en la conducta de roer. Esto es, las hembras de los grupos de desnutrición ocuparon gran parte de su tiempo en roer, los nutricubos de alimento, que se encontraban todo el tiempo en

los compartimentos alimenticios de las tapas de sus cajas. Cuando intentamos discernir si en alguno de los tratamientos había diferencia, encontramos que la comparación de las frecuencias de roer en las hembras experimentales DxP vs DxL no mostró diferencias significativas.

En diversos paradigmas conductuales de aprendizaje se ha descrito que las ratas previamente desnutridas muestran aumentos en la responsividad ante situaciones en las que la recompensa u objetivo en alcanzar es el alimento (Halas y col., 1980, Smart y col., 1973). Este aumento en la motivación hacia el alimento es probablemente lo que está provocando en nuestros animales por un lado, incrementos en la conducta de roer y por el otro, como el roer y la atención a las crías son excluyentes, el aumento de roer disminuye la ejecución de conductas maternas.

Es importante señalar que el diseño experimental que se implementó para estudiar la sensibilización maternal de hembras desnutridas contempló el que el alimento de las ratas estuviera todo el tiempo sobre las tapas de su caja. Esta maniobra permitía una interferencia mínima con las observaciones, ya que de otro modo, en algún momento previo al inicio de las observaciones se hubiera necesitado cambiar la tapa conteniendo alimento por una limpia, lo que provocaría alteraciones en la conducta de las hembras, particularmente de las hembras desnutridas que, como ya cité repetidamente, son muy susceptibles a los cambios de situación ambiental.

Por otro lado, los estudios acerca de los estímulos que provocan la aparición de la CM por sensibilización reconocen, que si bien la influencia de las hormonas de la preñez y parto no son importantes, la estimulación sensorial emitida por las crías, a lo largo de los días, juega un papel determinante en la aparición de la Conducta Maternal durante la sensibilización (Numan, 1994). Se sabe que estímulos olóricos, acústicos, visuales, y térmicos, entre otros, son capaces de modular, tanto en las hembras vírgenes como en las madres después del parto, la ejecución de los patrones de CM dirigidos hacia las crías (Numan, 1994). De hecho en la metodología utilizada en el presente estudio, hemos

reducido el espacio entre las hembras y las crías buscando que los estímulos provenientes de estas últimas y la consecuente activación de canales sensoriales en las hembras, se faciliten

Así entonces, el probable deterioro en la actividad sensorial de las hembras neonatalmente desnutridas, sería uno de los factores que debemos tomar en cuenta para explicar el porqué, estas hembras mostraron una reducida ejecución de patrones de Conducta Maternal.

Ahora bien, si consideramos que la aparición y consolidación de la conducta maternal a través de la sensibilización puede estar sujeta al control de operaciones cognitivas de atención y/o aprendizaje, en este caso hacia el cuidado de las crías, es importante señalar que diversos reportes de investigación han mostrado que en los animales sometidos a periodos de desnutrición y/o privación del cuidado materno, la atención está deteriorada. Así se ha descrito que las ratas desnutridas tienen dificultad para ejecutar tareas de aprendizaje espacial y de discriminación (Campbell y Bedi, 1989; Rogers y col., 1986; García-Ruiz y col. 1994).

En un resumen general podemos decir que las evidencias de las alteraciones en la CM aquí reportadas nos indican que, adicionalmente al retardo en el inicio de la ejecución de patrones de CM, cuando éstos llegan a presentarse se registran con frecuencias muy bajas. En efecto encontramos que la frecuencia de registro para la postura de echarse sobre las crías fue muy baja. En este sentido es importante señalar que otros trabajos de investigación en nuestro grupo también han descrito esta alteración después del parto (Salas, 1984, Regalado, 1993).

Si bien poco se ha avanzado en la explicación de porqué la desnutrición produce decrementos en esta postura, se ha discutido la posibilidad que, como consecuencia de la privación del cuidado materno durante la lactancia, en las crías se produzcan alteraciones en el desarrollo de su interacción social (Salas, 1984). En este sentido distintos reportes de investigación han descrito que a edades tempranas la conducta social de los animales desnutridos se ve severamente afectada (Franková, 1971, 1972). Quizás, en nuestros animales ese deterioro temprano está teniendo consecuencias para su interacción con las crías utilizadas durante la sensibilización.

Otro aspecto de nuestros hallazgos y que también podría explicar el empobrecimiento de la CM en las hembras desnutridas, es el estado emocional alterado que se registró en ellas. Encontramos que las ejecuciones de aseo y EV se incrementaron en el grupo de desnutrición DxP. Sabemos que estas conductas se han asociado a estados emocionales exagerados en los animales desnutridos durante diversas situaciones experimentales (Salas, 1991). Apoyando esta idea de los estados emocionales alterados, encontramos mayores frecuencias de enterramiento de las crías en las hembras DxP. En este sentido se sabe que la conducta de enterramiento es un patrón motor descrito en situaciones de ansiedad o alto estrés (Chopin y Briley, 1987).

Aún más, el aumento en las frecuencias de la conducta de alimentación (roer), también se han considerado en los animales desnutridos como una sobreatención de los animales hacia la comida. En este particular aspecto esta sobreestimulación pudo además reducir la atención que la hembra podía dar a las crías

Por otro lado un hallazgo relevante lo constituye el hecho de que las hembras desnutridas estuvieron más tiempo en reposo y con menores frecuencias de husmeo. En general esta pobre exploración del medio se ha descrito que se incrementa más en los animales que como consecuencia de la privación del alimento han tenido privación sensorial (Franková, 1972). En nuestro estudio los animales separados de su madre permanecieron aislados en un incubador. Así, entonces podemos considerar que la poca exploración y el aumento en la inmovilidad de las hembras del grupo DxP fue consecuencia tanto de las alteraciones producidas por la desnutrición como de las consecuencias derivadas de la privación de estímulos sensoriales durante la lactancia.

Finalmente cuando comparamos los registros entre los animales desnutridos durante la lactancia y rehabilitados después de este periodo, encontramos que las hembras del grupo experimental DxP, husmearon y asearon más a las crías. Mencionamos anteriormente que creemos que existe una correlación importante entre estas conductas, el hecho de que están asociados sus incrementos sólo en el grupo experimental DxP puede reforzar nuestra propuesta.

Las comparaciones entre los grupos experimentales también nos indicaron que la conducta de quieto y de husmeo se observaron más en el grupo de desnutrición DxL. De

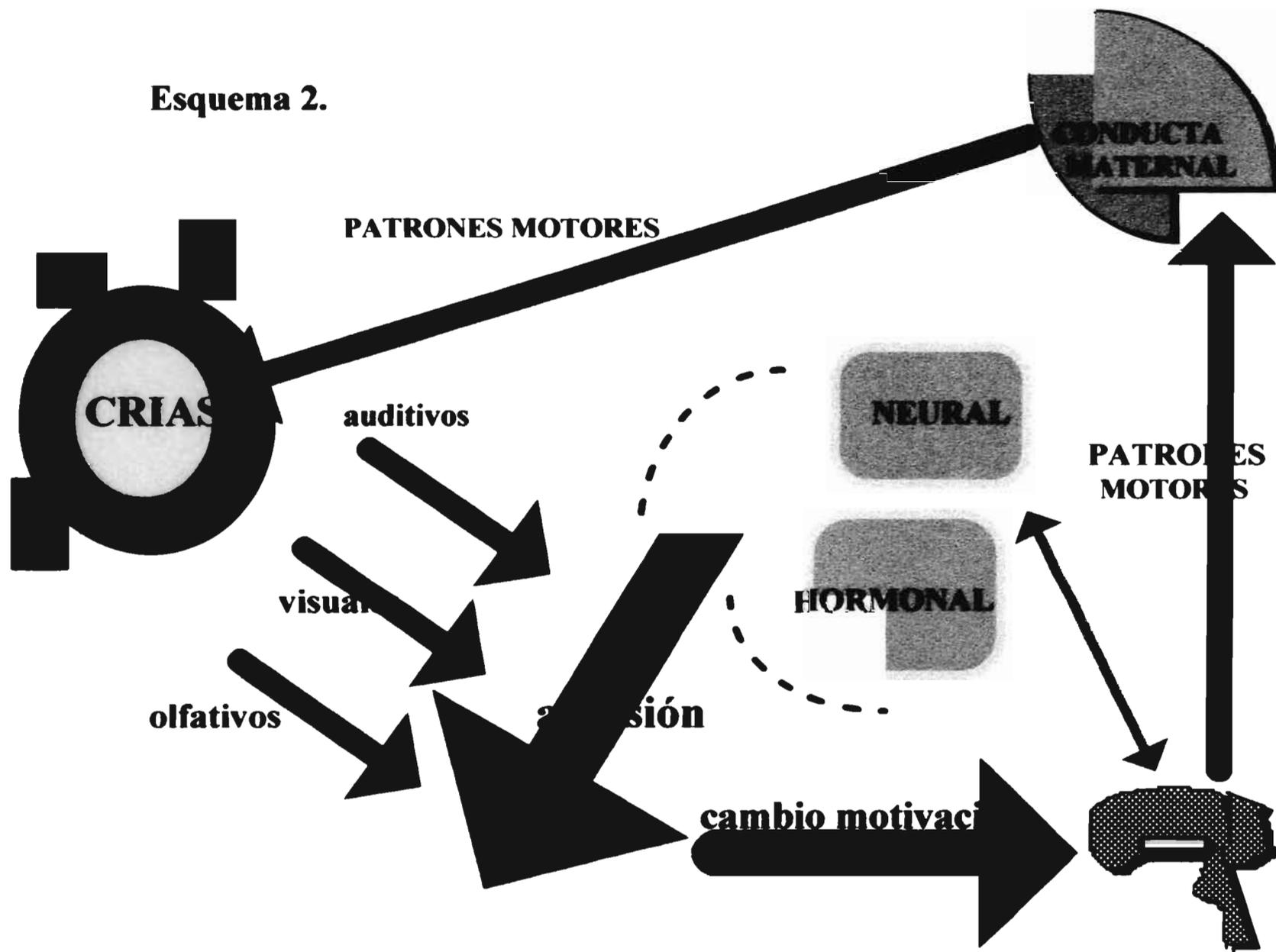
nueva cuenta tenemos aquí, que de acuerdo a su definición formal, las conductas referidas son posturas muy similares, mientras la postura de quieto es el reposo del animal sin husmeo, el husmeo es el movimiento de la nariz y vibrisas del animal al estar en reposo, de lo anterior es muy tentador postular que los incrementos de las frecuencias en ambas se deben a una asociación postural. Podemos en el aspecto funcional sugerir que las hembras experimentales DxL estuvieron menos activas que las DxP, ya que su estado emocional estaba más relajado. Apoya esta propuesta el que las hembras DxP mostraron mayores frecuencias de autoaseo en los registros de las 1900 horas.

El modelo conductual construido en el **esquema 2**, sintetiza gráficamente las evidencias sobre el control de la CM provocada por sensibilización de hembras vírgenes intactas.

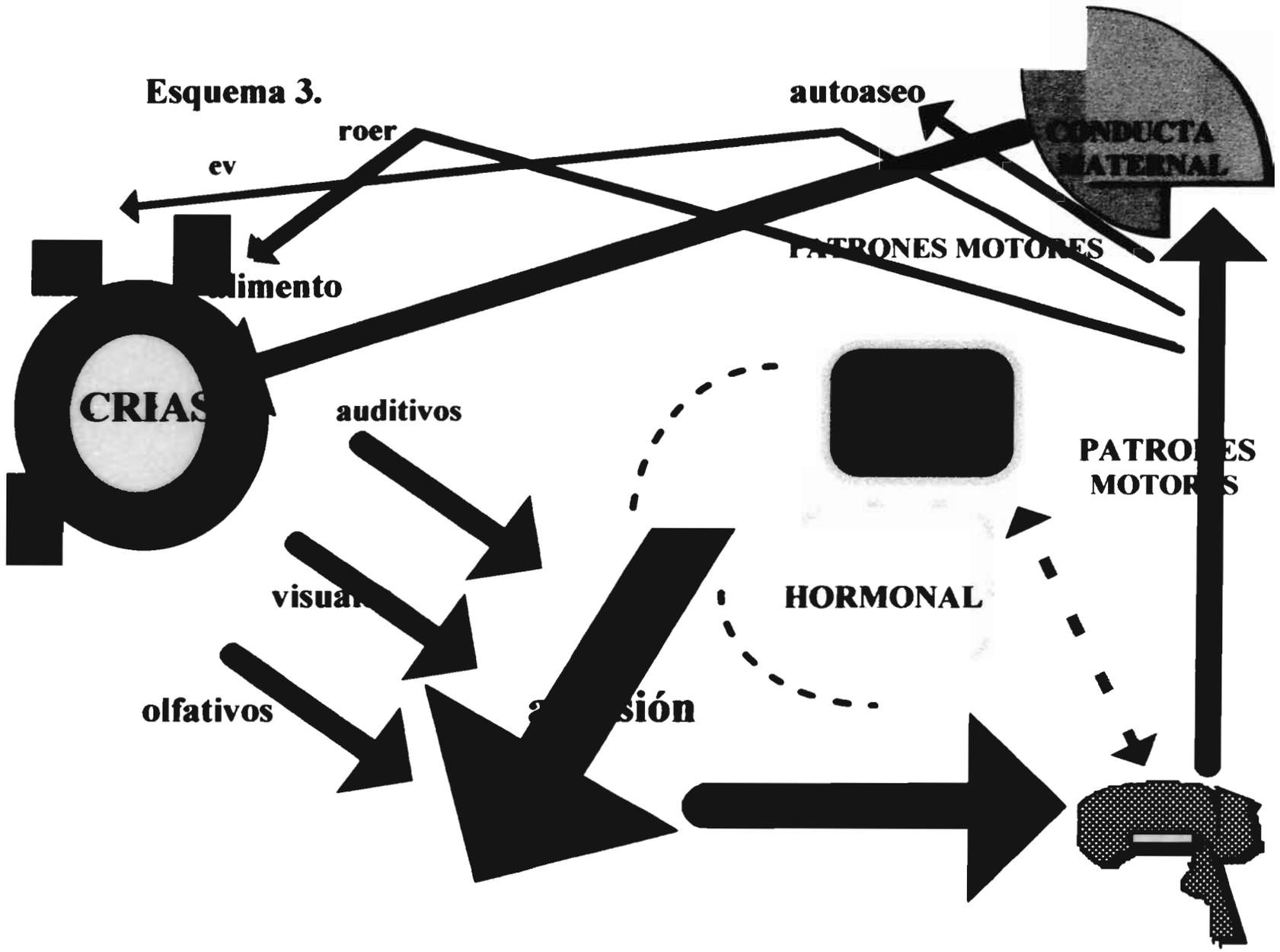
Partimos de la propuesta de Rosenblatt, 1979 (citado por Numan, 1994) de que existe un nivel básico de motivación para ejecutar conducta maternal en las hembras sensibilizadas y que no parece estar siendo mayormente regulado por la estimulación hormonal (cuadrado amarillo en el interior del cerebro). Este nivel básico será factible de activación cuando los diversos estímulos (flechas grises) provenientes de crías de corta edad (círculo azul) , sean lo suficientemente activos para superar la aversión (flecha indigo) mostrada inicialmente hacia las crías por parte de las hembras adultas. Para que este cambio de motivación se origine en las hembras, debe existir la integridad anatómica y funcional del sistema nervioso y del sistema endócrino (cuadros grises) ambos sistemas funcionales actuando en su conjunto podrán ayudar a que la motivación aversiva cambie (flecha azul fuerte), permitiendo el contacto social hembra-crias. Así se iniciará la ejecución de patrones motores conceptualizados dentro de la conducta maternal (flechas azules). Los patrones motores ejecutados por las hembras serán fundamentalmente entonces dirigidos hacia el cuidado de las crías (flecha azul).

En el **esquema 3** integramos las evidencias descritas para el esquema 2 con nuestros principales hallazgos conductuales. Como consecuencia de la desnutrición durante la lactancia y no obstante periodos prolongados de rehabilitación nutricional, en las hembras

Esquema 2.



Esquema 3.



adultas encontramos cambios fundamentales en la CM por sensibilización. Proponemos con base estrictamente en nuestros resultados que: no obstante la desnutrición neonatal de las hembras, los estímulos provenientes de las crías (flechas grises) son capaces de lograr un cambio en la motivación aversiva (flecha roja), puesto que se logra que las hembras ejecuten patrones de conducta maternal. Sin embargo el cambio motivacional (flecha azul intenso) surge en un sistema nervioso y hormonal disfuncional (cuadros con líneas discontinuas), la disfunción está asociada a las alteraciones provocadas por la desnutrición (ver apartados anteriores de esta tesis). Así entonces, no obstante que el sistema nervioso es capaz de producir patrones motores (flechas azules tenues), estos no son exclusivamente dirigidos a las crías. La sobreindulgencia reportada como efecto de la desnutrición en nuestros animales se traduce en aumentos considerables en la ejecución de autoaseo y de exploración vertical (EV). Estas dos ejecuciones son en sí mismas actividades que restan atención a las crías.

Aún más, en las hembras desnutridas neonatalmente se presentan altas frecuencias de ejecución de patrones de comportamiento, dirigidos hacia estímulos del ambiente, como es el alimento. Las hembras desnutridas neonatalmente muestran un gran interés por roer los nutricubos que se encuentran en el ambiente cercano a las crías, distrayéndose considerablemente de probables actividades maternas.

RESULTADOS

EXPERIMENTO 3. Expresión de la conducta maternal postparto en hembras adultas tratadas neonatalmente con Capsaicina (Cap).

Distribución de la curva de peso corporal. (Tabla 1.4). La tabla nos muestra la distribución de los pesos a lo largo del crecimiento de los animales. Como resultado del tratamiento con Cap encontramos diferencias significativas en el peso de los animales. El análisis de varianza reveló una $F(1,13)=89.4$, $p<0.0001$ para el factor asociado a la administración de Cap, una $F(1,9)=804.7$ $p<0.0001$ para el factor edad, y una $F(1,9)=9.01$ $p<0.0001$ para la interacción entre los factores. Así tenemos que particularmente para los días 50 y 60 las hembras-cap tuvieron menor peso corporal que sus control.

Expresión conductual durante los 5 min previos a la prueba de conducta maternal de acarreo.

La gráfica de la figura 1.4 nos muestra la distribución (media \pm error estándar) de la conducta de autoaseo a lo largo de la lactancia. Encontramos diferencias significativas asociadas al tratamiento $F(1,13)=4.08$ $p=0.05$. El factor de variación asociado a los días de lactancia fue de $F(1,9)=3.60$ $p<0.005$. Los valores para la interacción fueron de $F(1,117)=1.89$ $p<0.05$., las pruebas posteriores mostraron disminuciones en el autoaseo de las hembras-cap en los días 5,7,y 9 ($p<0.01$, t de Fisher's).

Por su parte, la conducta de escarbar no mostró diferencias significativas para el factor tratamiento $F(1,13)=1.54$ $p=.42$ (ns). Para la duración del registro se obtuvieron valores de $F(1,9)=1.7$ $p=.08$ (ns). Mientras que los valores asociados a la interacción fueron de $F(1,117)=.484$ $p=0.88$ (ns). Así este patrón conductual, que se ejecutó con frecuencia muy bajas, fue similar en ambos grupos (gráfica no incluida)

El análisis de las frecuencias registradas para la exploración horizontal, durante los 5 minutos previos a la prueba de CM de acarreo, encontramos que para la interacción los valores fueron de $F(1,13)=.528$ $p=.48$ (ns). Para el factor asociado a la duración de la lactancia encontramos una $F(1,9)=2.14$ $p<0.05$, mientras que la interacción fue de

Tabla 1.4 **EXPERIMENTO 3 Capsaicina**

Peso corporal a lo largo de la lactancia y el crecimiento postnatal de las hembras.
(media ± error estándar)

Edad (días)	Control (n=7)	Experimentales (n=8)
5	12.5 ± .44	11.9 ± .4
10	22.2 ± 1.1	25.9 ± .7
20	45.2 ± 1.8	49.9 ± .7
30	78.9 ± .97	110.3 ± 2.4
40	125.2 ± 3.6	135.2 ± 2.8
50	152.1 ± 3	207.6 ± 3.3
60	188.3 ± 8.4	243.8 ± 3.8
70	255.7 ± 8	251.3 ± 2.4
80	273.7 ± 5.1	276.4 ± 2.5
90	315.9 ± 4.8	315.1 ± 3.9

ANOVA. $F(1,13)=89.4$ $p < 0.0001$ para el tratamiento; $F(1,9)=804.7$ $p < 0.0001$ para la edad; $F(1,9)=9.01$ $p < 0.0001$ para la interacción.

Tabla 1.4**EXPERIMENTO 3 Capsaicina**

Peso corporal a lo largo de la lactancia y el crecimiento postnatal de las hembras.
(media \pm error standard)

Edad (días)	Control (n=7)	Experimentales (n=8)
5	12.5 \pm .44	11.9 \pm .4
10	22.2 \pm 1.1	25.9 \pm .7
20	45.2 \pm 1.8	49.9 \pm .7
30	78.9 \pm .97	110.3 \pm 2.4
40	125.2 \pm 3.6	135.2 \pm 2.8
50	152.1 \pm 3	207.6 \pm 3.3
60	188.3 \pm 8.4	243.8 \pm 3.8
70	255.7 \pm 8	251.3 \pm 2.4
80	273.7 \pm 5.1	276.4 \pm 2.5
90	315.9 \pm 4.8	315.1 \pm 3.9

ANOVA. $F(1,13)=89.4$ $p < 0.0001$ para el tratamiento; $F(1,9)=804.7$ $p < 0.0001$ para la edad; $F(1,9)=9.01$ $p < 0.0001$ para la interacción.

Autoaseo

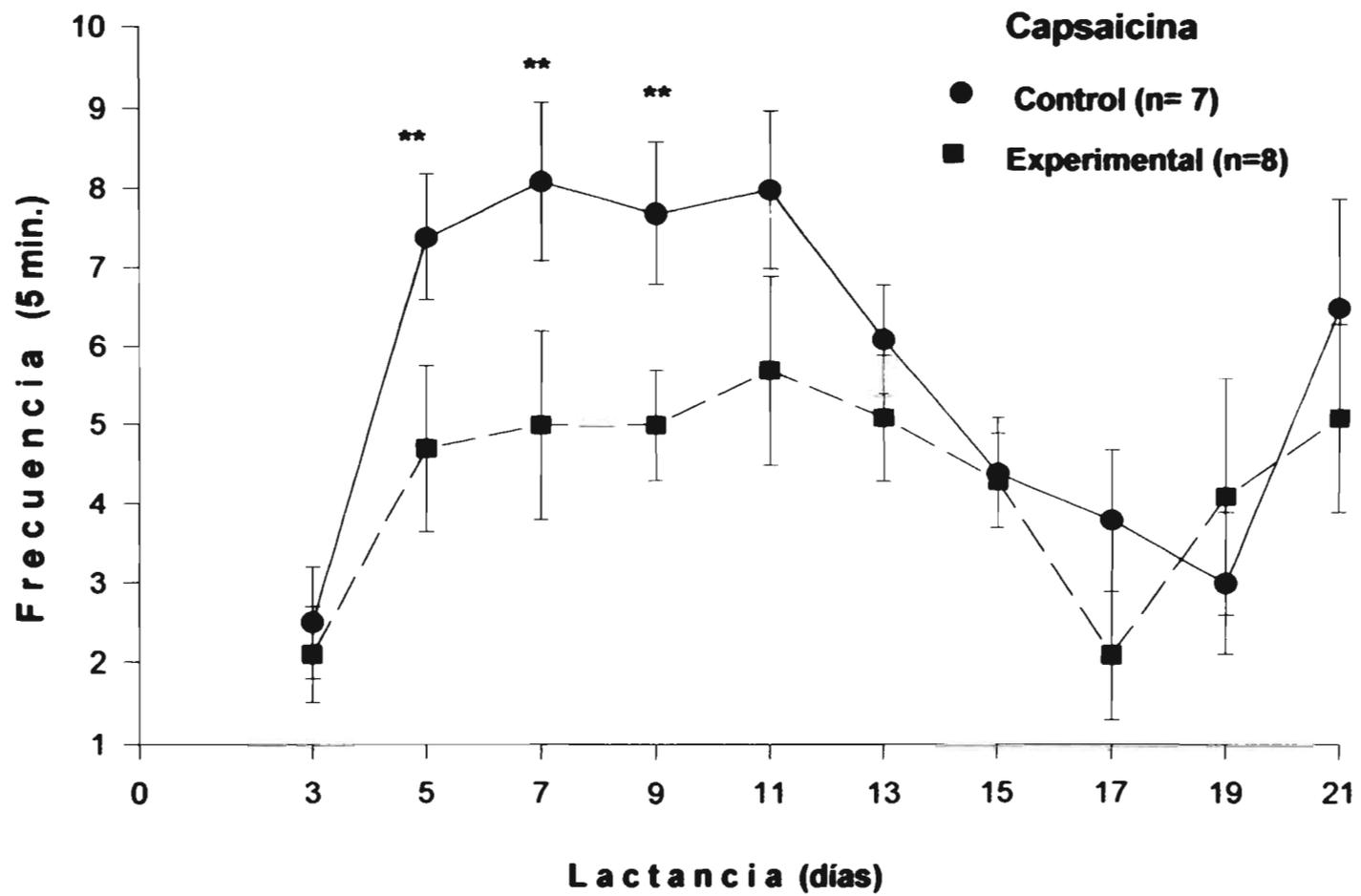


Figura 1.4

$F(1,117)=1.26$ $p=.26$. De tal modo, las bajas frecuencias de ejecución en esta conducta fueron iguales entre los grupos (gráfica no incluida).

La EV (gráfica de la figura 2.4) registrada mostró diferencias asociadas al tratamiento $F(1,13)=5.78$ $p<0.05$. Los resultados para el factor duración de la lactancia fueron de $F(1,9)=1.14$ $p=.33$ (ns). Mientras que los valores encontrados en el análisis de la interacción fueron $F(1,117)=.26$ $p=.98$ (ns). Así tenemos que las hembras tratadas neonatalmente con Cap ejecutaron más la EH. El análisis posterior reveló que las diferencias estaban en los días 7 ($p<0.05$) y 21 ($p<0.05$) (t de Fisher's).

Por lo que concierne a la conducta de husmeo, el análisis reveló que no había diferencias asociadas al tratamiento $F(1,13)=.22$ $p=.64$ (ns). Para la duración de la lactancia encontramos valores de $F(1,9)=1.3$ $p<.29$ (ns). Mientras que los valores obtenidos de la interacción fueron de $F(1,117)=.51$ $p<0.85$ (ns) (gráfica no incluida).

La manera como las hembras husmearon al nido en ausencia de las crías se ilustra en la gráfica de la figura 3.4. Así, los valores asociados al tratamiento fueron de $F(1,13)=.07$ $p<.93$ (ns). Los valores asociados a la duración de la lactancia fueron de $F(1,9)=1.44$ $p=.17$ (ns). Por su parte la interacción fue igual a $F(1,117)=2.26$ $p<0.05$.

La ejecución de la conducta de rascado del cuerpo y la cabeza (gráfica de la figura 4.4) mostró diferencias significativas debidas al tratamiento $F(1,13)=1.99$ $p<0.05$. El factor asociado a la duración de lactancia obtuvo valores de $F(1,9)=2.44$ $p<0.05$. Por su parte la interacción de los factores fue de $F(1,117)=.75$ $p=.66$ (ns). En la gráfica se muestra que si bien las curvas son muy similares, las hembras-Cap ejecutan más el rascado. En particular las diferencias son significativas para el día 17 de la lactancia ($p<0.05$, t de Fisher's).

Finalmente, durante los 5 minutos previos a la prueba de la conducta maternal de acarreo encontramos que la conducta de roer (gráfica de la figura 5.4) fue diferente cuando se analiza la influencia del tratamiento, $F(1,13)=113.5$ $p<0.005$. Los valores asociados a la duración de la lactancia por su parte fueron de $F(1,9)=13.5$ $p<0.005$, mientras que los valores asociados a la interacción fueron de $F(1,117)=2.6$ $p<0.22$ (ns). La gráfica nos muestra que los incrementos en esta ejecución fueron significativamente más altos en las

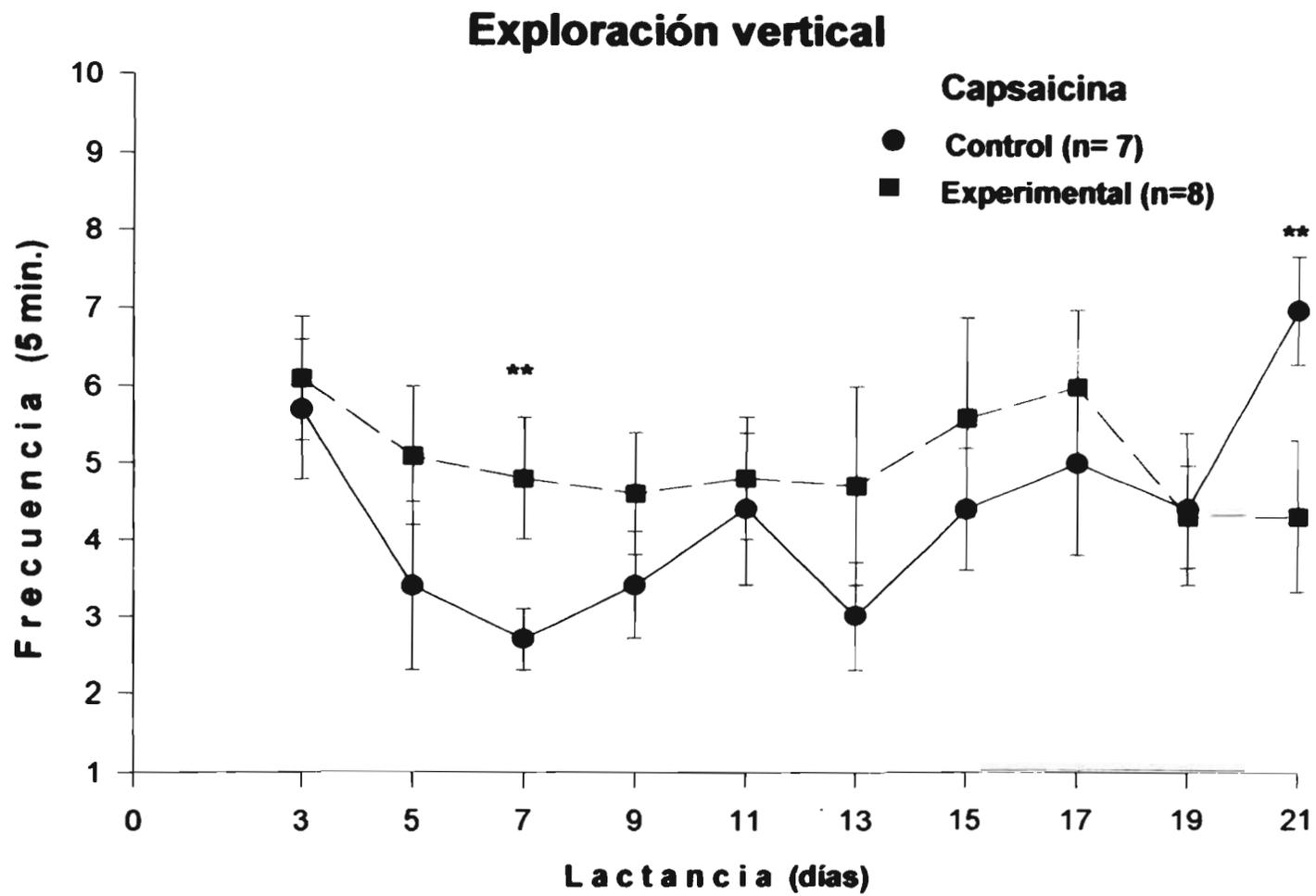


Figura 2.4

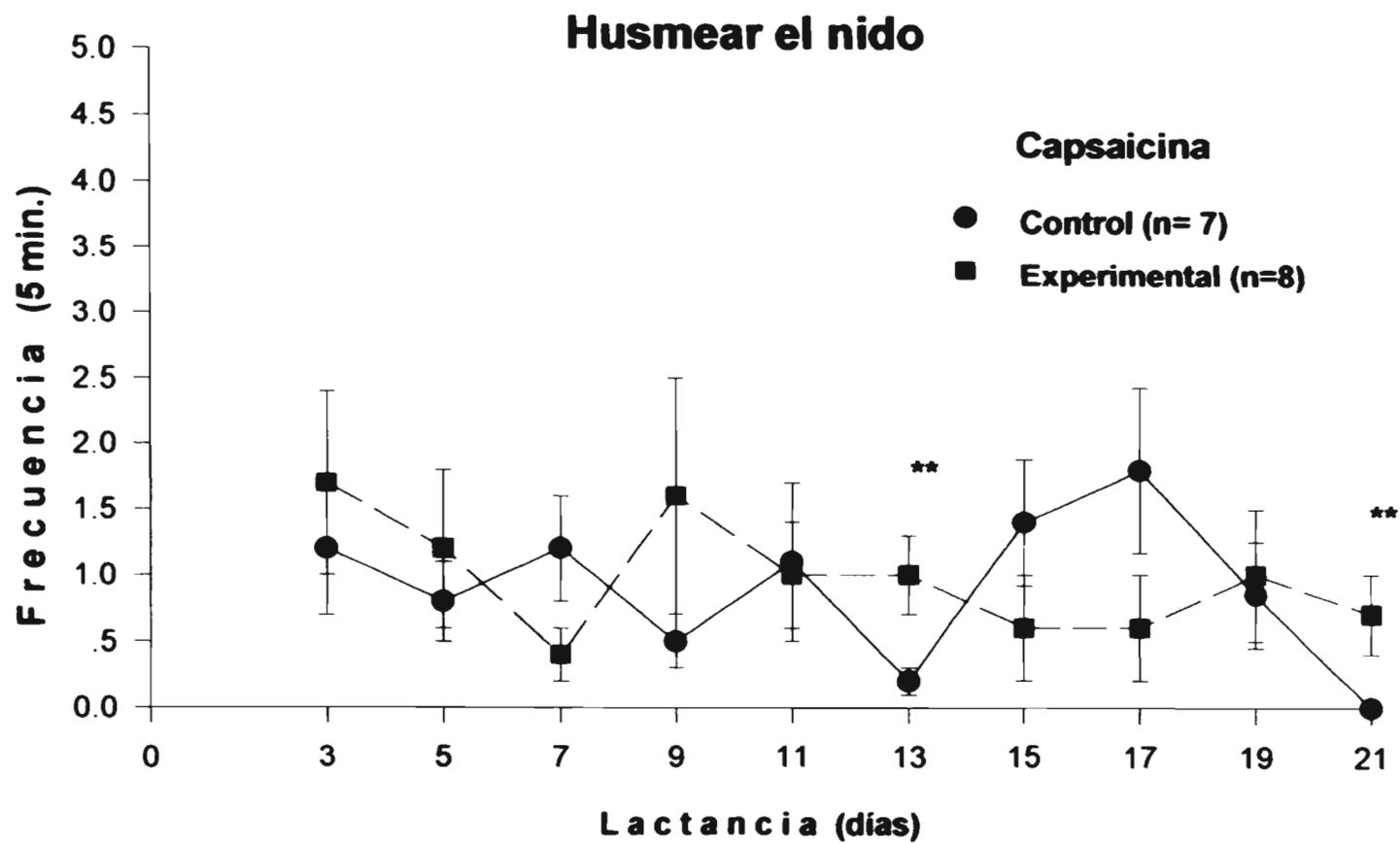


Figura 3.4

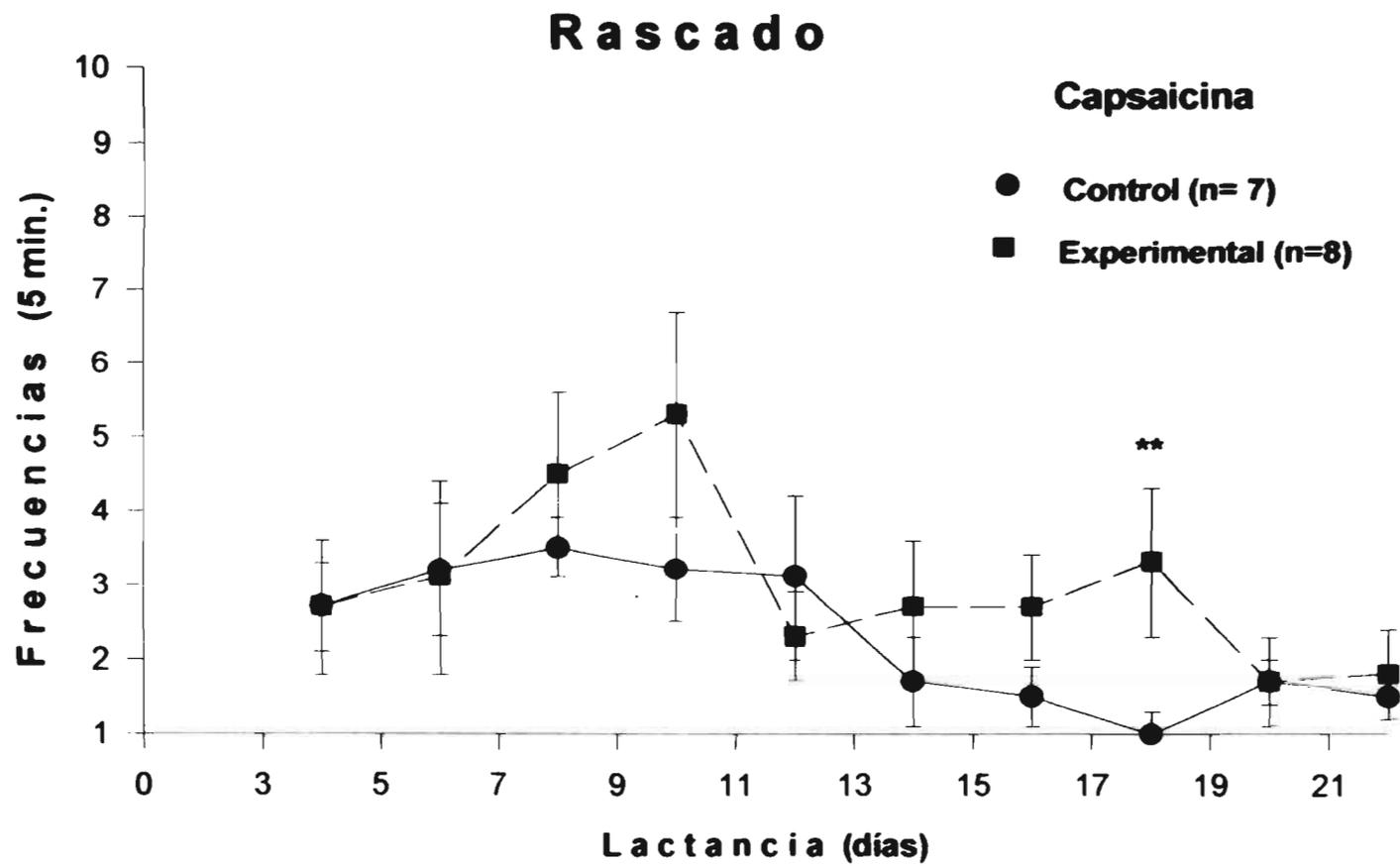


Figura 4.4

Roer

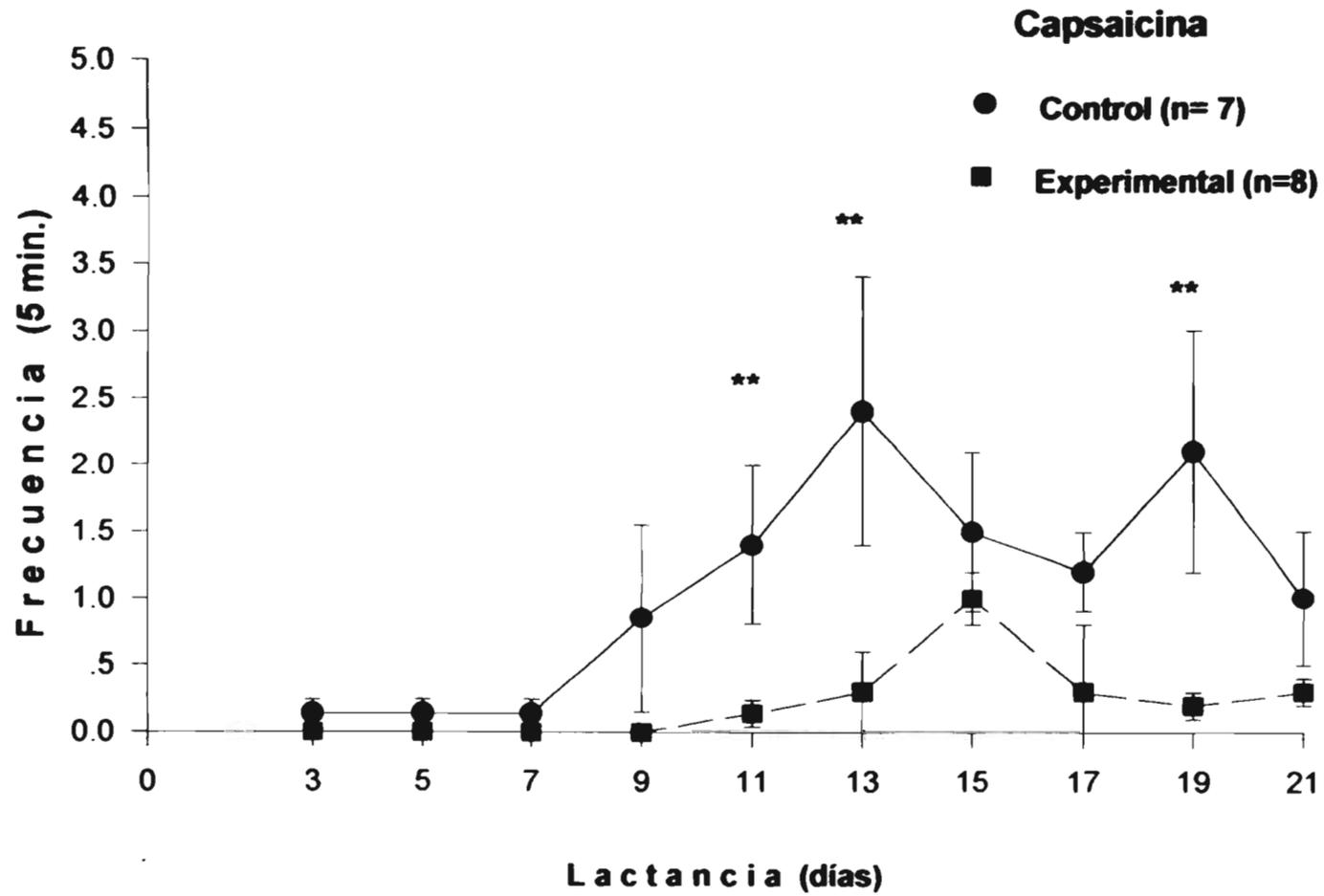


Figura 5.4

hembras-Cap a los 11, 13 15 y 19 de lactancia ($p < 0.05$, en todos los casos) (prueba t de Fisher's).

Expresión conductual durante la prueba de conducta maternal de acarreo.

Cuando analizamos las latencias para la ejecución del acarreo por parte de los grupos estudiados (gráfica de la figura 6.4), encontramos que el factor tratamiento provoca diferencias significativas, $F(1,113)=14.4$ $p < 0.005$. La edad también mostró que provocaba diferencias significativas $F(1,6)=80.3$ $p < 0.005$. Como era de esperarse la interacción también reveló diferencias entre los grupos $F(1,6)=70.8$ $p < 0.005$. La gráfica 6.4 nos ilustra que las hembras-Cap tuvieron latencias de acarreo más tardías para los días 5, 9 y 15 ($p < 0.01$, en cada caso) (t de Fisher's). Observamos que si bien los animales control dejaron de mostrar acarreo para el día 13, las hembras-Cap dejaron de acarrear a sus crías sino sólo después del día 15.

En el análisis de la conducta de aseo hacia la crías, encontramos que el factor tratamiento no resultó con diferencias significativas $F(1,14)=3.6$ $p = .89$ (ns). Por su parte para el factor asociado a la duración de la lactancia encontramos valores de $F(1,9)=12.2$ $p < 0.005$. La interacción entre los factores tuvo como valores una $F(1,9)=1.74$ $p < .98$ (ns) (gráfica no incluida).

Por lo que respecta al análisis de las latencias para mostrar la postura de echada sobre las crías (gráfica de la figura 7.4), encontramos que el tratamiento provocó diferencias significativas entre los grupos $F(1,12)=10.4$ $p < 0.005$. El factor asociado a la duración de la lactancia obtuvo valores de significancia de $F(1,9)=7.7$ $p < 0.005$. La interacción entre los factores citados mostró valores de $F(1,9)=3.08$ $p < 0.005$. La gráfica nos muestra la distribución de las latencias (media \pm error estándar) para echarse sobre las crías a lo largo de la lactancia. Observamos que los animales control disminuyen progresivamente sus latencias durante los primeros 9 días de la lactancia. A partir de ese día, las latencias de las madres control se incrementan hasta alcanzar los valores más altos hacia el final del estudio. De manera contrastante en las madres experimentales encontramos que las latencias de acarreo son muy similares para los primeros 9 días de la lactancia. Para el día 11 se registra una baja en la latencia, tendencia que se acentúa para el día 13. A partir de este día las latencias

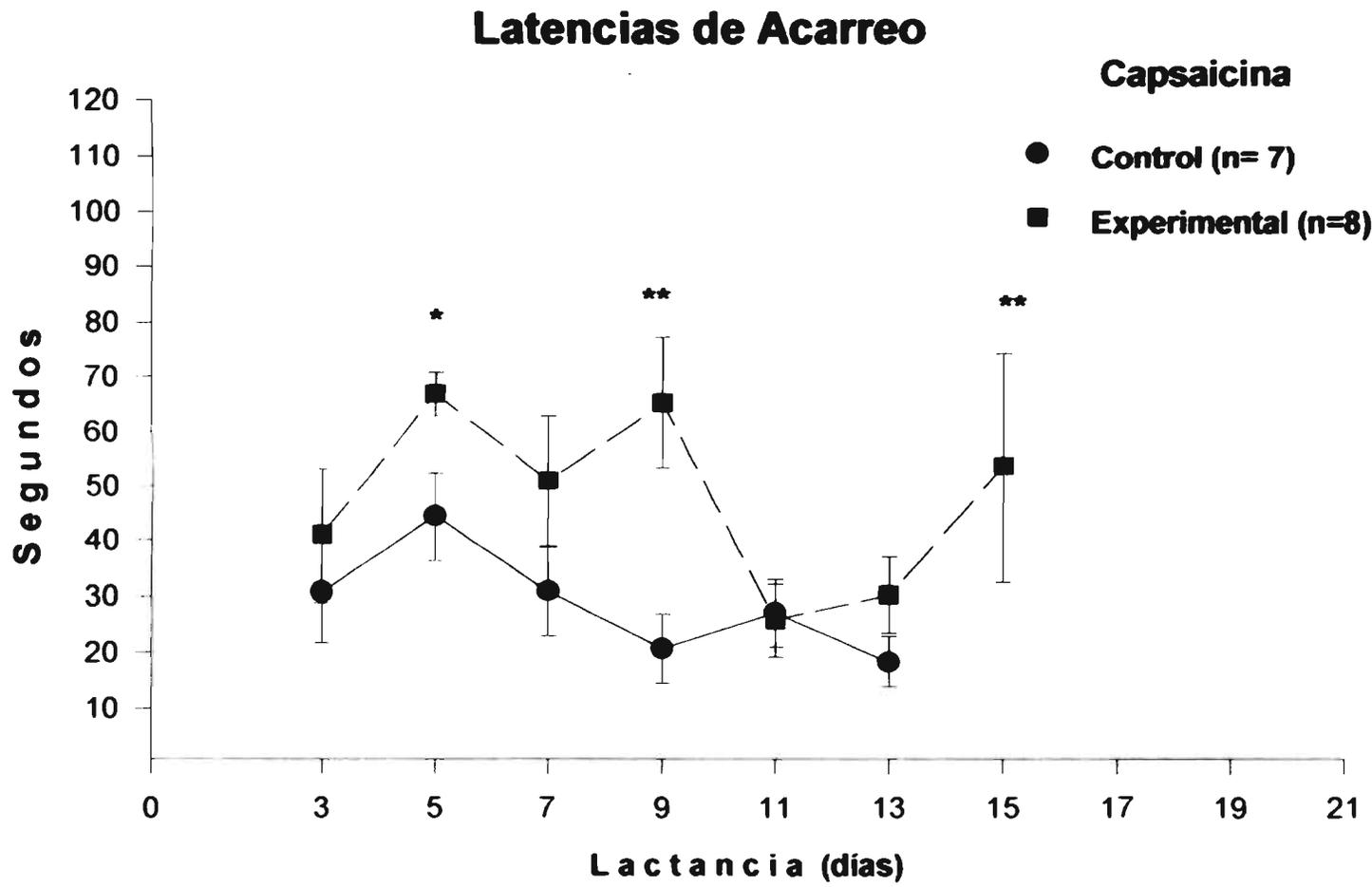


Figura 6.4

Latencias para echarse sobre las crías

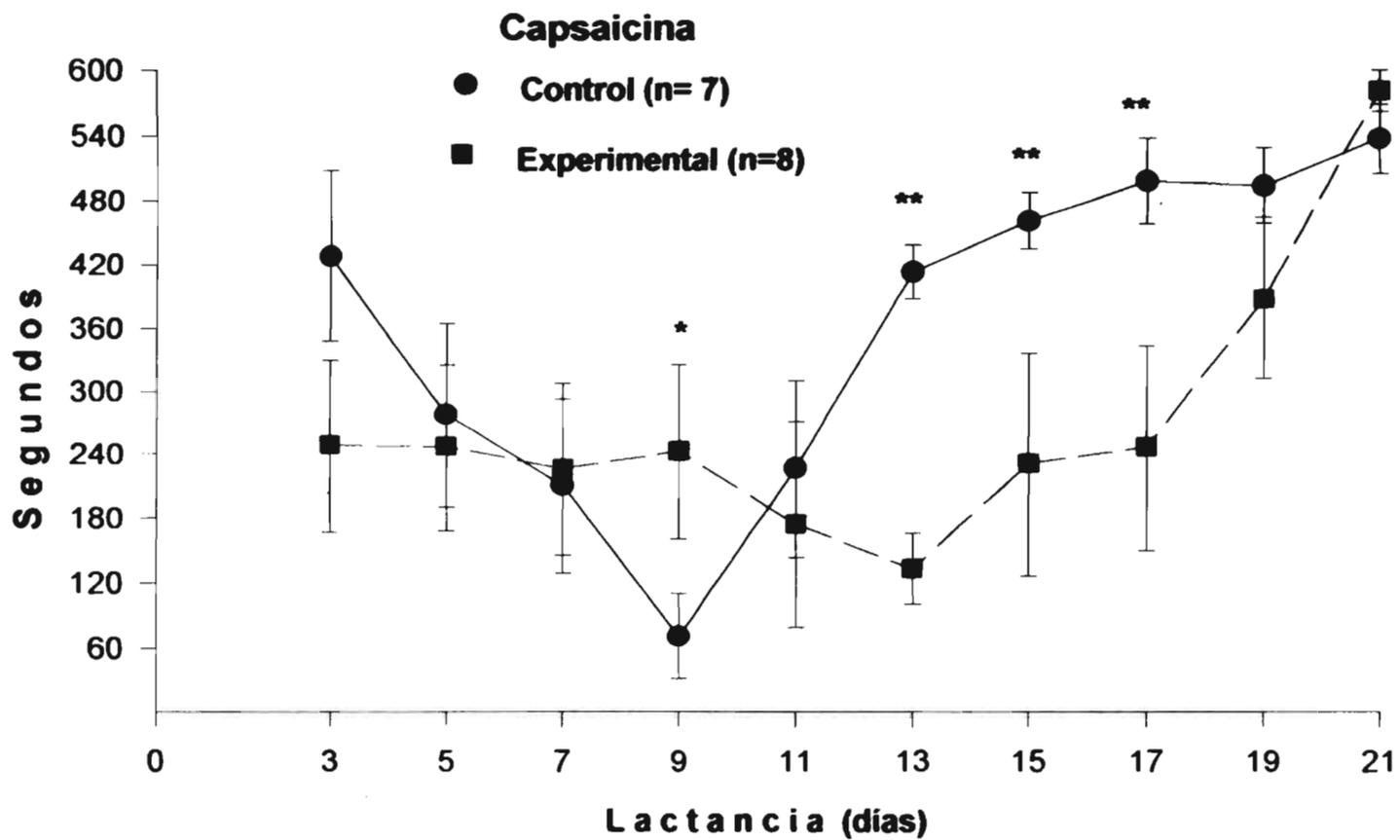


Figura 7.4

comienzan a incrementarse gradualmente, alcanzando los valores más altos en este grupo para el día 21 de la lactancia, último día del registro.

Los análisis posteriores al ANOVA confirmaron que las diferencias entre los grupos se dieron para los días 9 (más altos los experimentales), y para los días 13, y 17 (más bajos los experimentales) ($p < 0.05$ y $p < 0.01$) (prueba t de Fisher's).

El análisis del número de veces que las hembras adoptaron la postura que les permitió echarse sobre sus camadas no reveló diferencias asociadas al factor tratamiento $F(1,14) = .09$ $p = .293$ (ns). El factor asociado a la duración de la lactancia obtuvo valores de $F(1,9) = 4.7$ $p < 0.005$. En la interacción de los factores obtuvimos una $F(1,9) = 2.9$ $p < 0.005$. La gráfica de la figura 8.4 nos muestra la distribución de las frecuencias registradas para esta postura a lo largo de la lactancia. Las madres control mostraron valores muy similares para los días 5 al 13. A partir de ese día la frecuencia de la postura de echada sobre la crías disminuyó a valores incluso más bajos a los mostrados durante la primera mitad de lactancia. En contraste tenemos la conducta exhibida por las madres-Cap, estas hembras fueron mostrando incrementos graduales en la frecuencia desde el inicio de la prueba, valores que llegaron a su máximo para el día 13. A partir de ese día los valores disminuyeron sólo ligeramente, manteniéndose muy constantes hasta el final del estudio. Las diferencias encontradas fueron para los días 5 y 9 (donde los valores de los control fueron más altos) ($p < 0.05$ t de Fisher's) y para el día 17, donde los valores de las madres control fueron más bajos ($p < 0.05$, t de Fisher's).

Cuando el análisis se realiza utilizando el tiempo total en que las hembras estuvieron echadas sobre sus crías (gráfica de la figura 9.4), los resultados se comportaron de una manera muy similar al parámetro anterior. Los resultados obtenidos al analizar el factor tratamiento fueron de $F(1,13) = .02$ $p = .91$ (ns). Los valores obtenidos para el factor asociado a la duración de la lactancia fueron de $F(1,9) = 3.16$ $p < 0.005$. Por su parte la interacción de los factores obtuvo valores de $F(1,9) = 2.62$ $p < 0.005$. La gráfica 9.4 nos ilustra como durante el primer medio de la lactancia (hasta antes del día 13) los madres control estuvieron siempre más tiempo echadas sobre sus crías. A partir del día 13 y hasta el final del estudio esta tendencia se invirtió, siendo las madres-Cap las que permanecieron más tiempo echadas

Echada sobre las crías

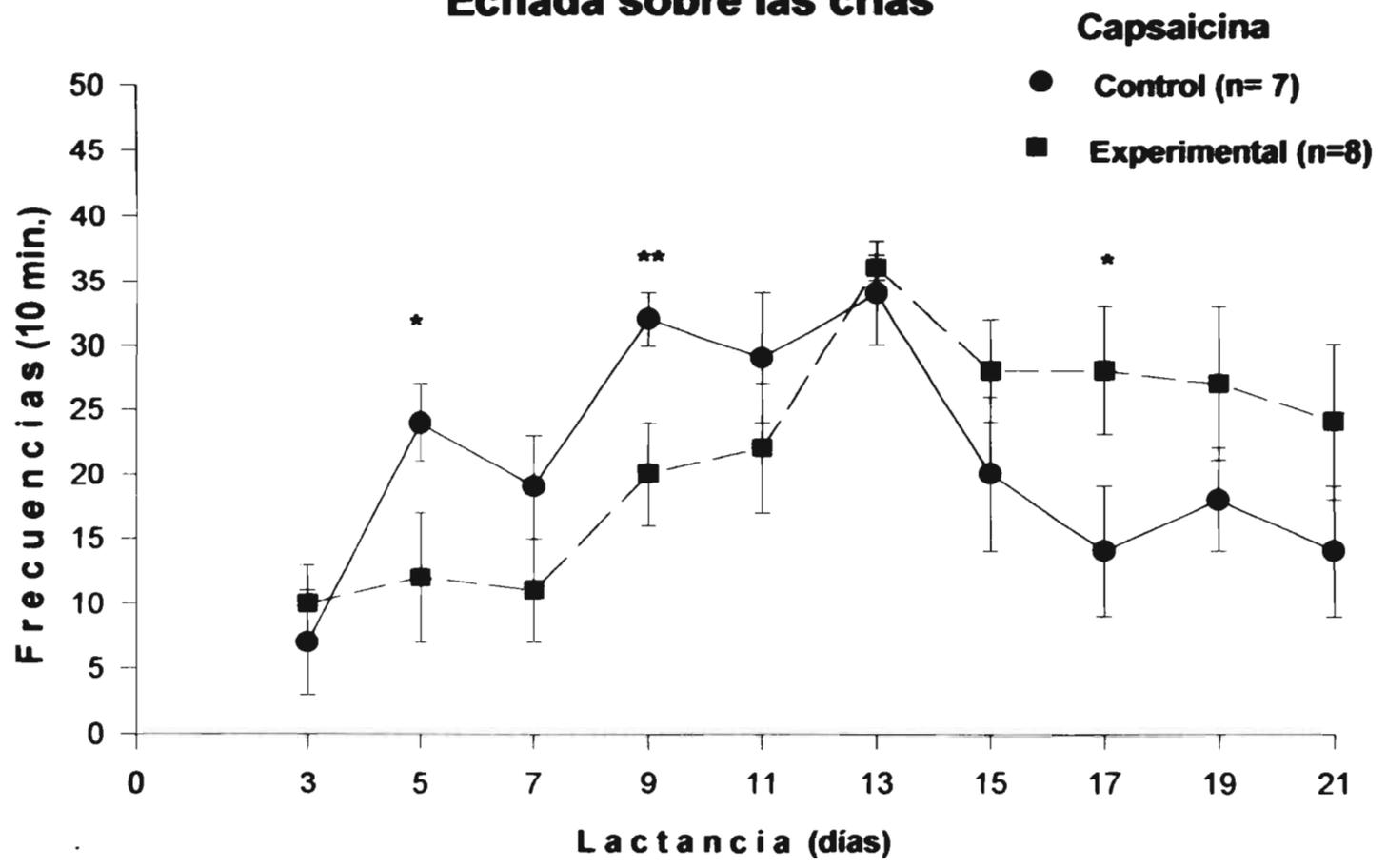


Figura 8.4

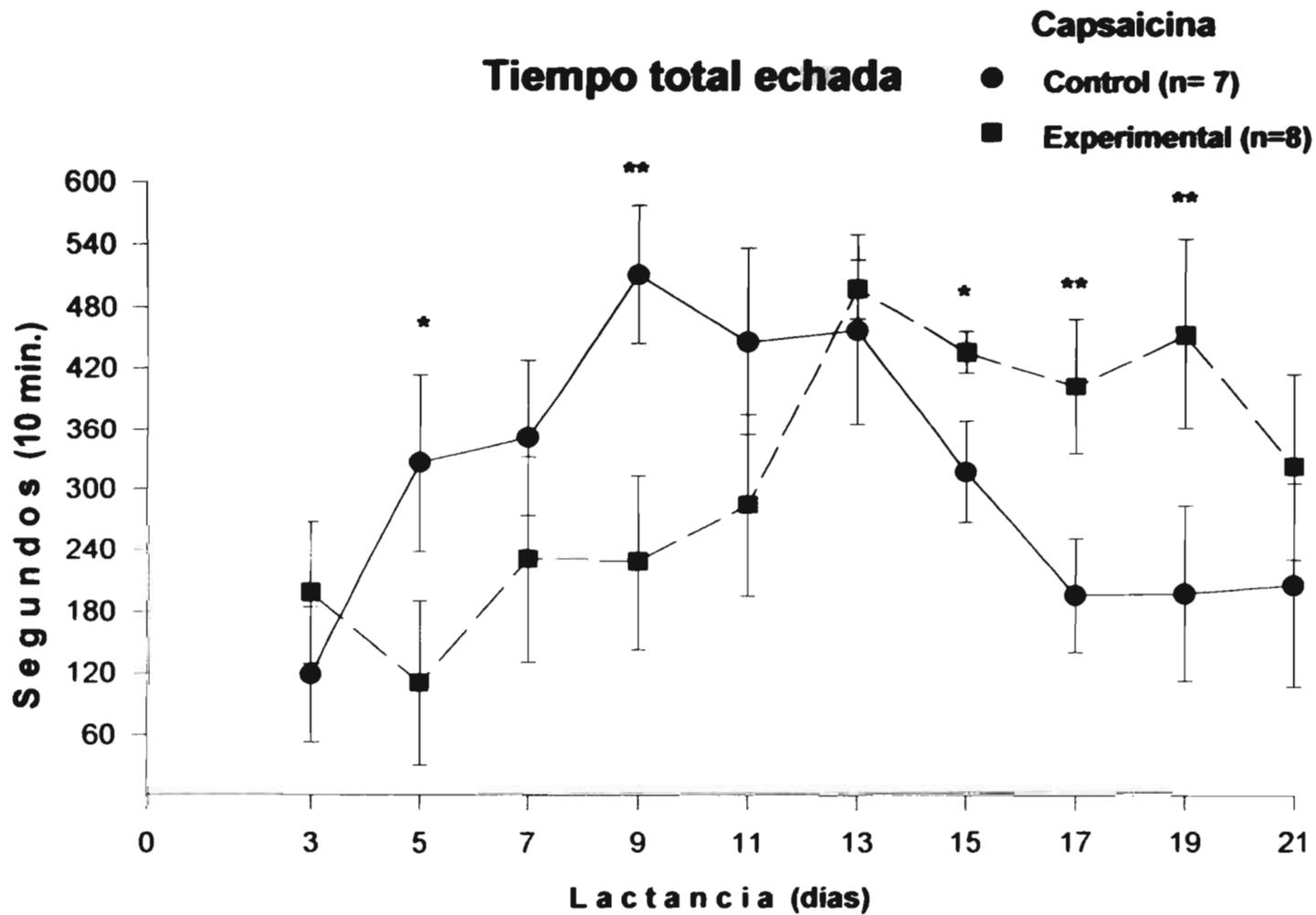


Figura 9.4

para los días 15, 17 y 19 (cuando los valores de los experimentales fueron más altos) ($p < 0.05$ en cada caso).

Además del análisis de las conductas ya referidas, a continuación mostramos la distribución de otras conductas registradas durante los 10 minutos de la prueba de conducta maternal de acarreo. Encontramos que la conducta de autoaseo de las hembras (gráfica de la figura 10.4) no mostró cambios asociados al tratamiento $F(1,14)=.19$ $p=.66$ (ns). El factor asociado a la duración de la lactancia resultó con valores de $F(1,9)=7.8$ $p < 0.005$, mientras que la interacción en los factores citados fue de $F(1,9)=1.9$ $p < 0.05$. De las curvas en la gráfica observamos que en ambos grupos, conforme avanzó la lactancia de las crías, las frecuencias fueron disminuyendo gradualmente, de tal modo que desde del día 11 los valores, ya muy bajos, se mantuvieron constantes. El análisis posterior (t de Fisher's) reveló que las diferencias se encontraron en el día 9 de la lactancia, ahí las madres-Cap ejecutaron frecuencias mayores de autoaseo ($p < 0.05$).

En el caso del análisis realizado con los muy escasos registros de la conducta de escarbar (gráfica no incluida), encontramos que el factor asociado al tratamiento obtuvo valores de $F(1,14)=.52$ $p=.47$ (ns). Por lo que toca al factor asociado a la duración de la lactancia obtuvimos valores de $F(1,9)=2.9$ $p < 0.005$, mientras que los valores de la interacción entre los factores fueron de $F(1,9)=1.1$ $p=.30$ (ns).

Con respecto a los también escasos registros obtenidos para la exploración horizontal (gráfica de la figura 11.4) encontramos que los valores obtenidos para el factor asociado al tratamiento fueron de $F(1,14)=4.7$ $p < 0.05$, mientras que los resultados para el análisis del factor asociado al tiempo de la lactancia fueron de $F(1,9)=6.2$ $p < 0.005$. La interacción resultante entre los factores obtuvo una $F(1,9)=0.16$ $p=.11$ (ns). Los análisis posteriores nos indicaron que las diferencias estuvieron en el día 11, 13 y 21 de la lactancia donde las hembras-Cap mostraron frecuencias más altas ($p < 0.05$, t de Fisher's).

Por su parte la exploración vertical mostrada a lo largo de la lactancia (gráfica de la figura 12.4) sí mostró diferencias asociadas al factor tratamiento $F(1,14)=9.91$ $p < 0.005$. En el factor asociado a la duración de la lactancia encontramos una $F(1,9)=9.4$ $p < 0.005$. La interacción resultante de los dos factores obtuvo valores de $F(1,9)=6.7$ $p < 0.005$. En la gráfica ilustramos la distribución en las frecuencias de exploración vertical a lo largo de la

Autoaseo

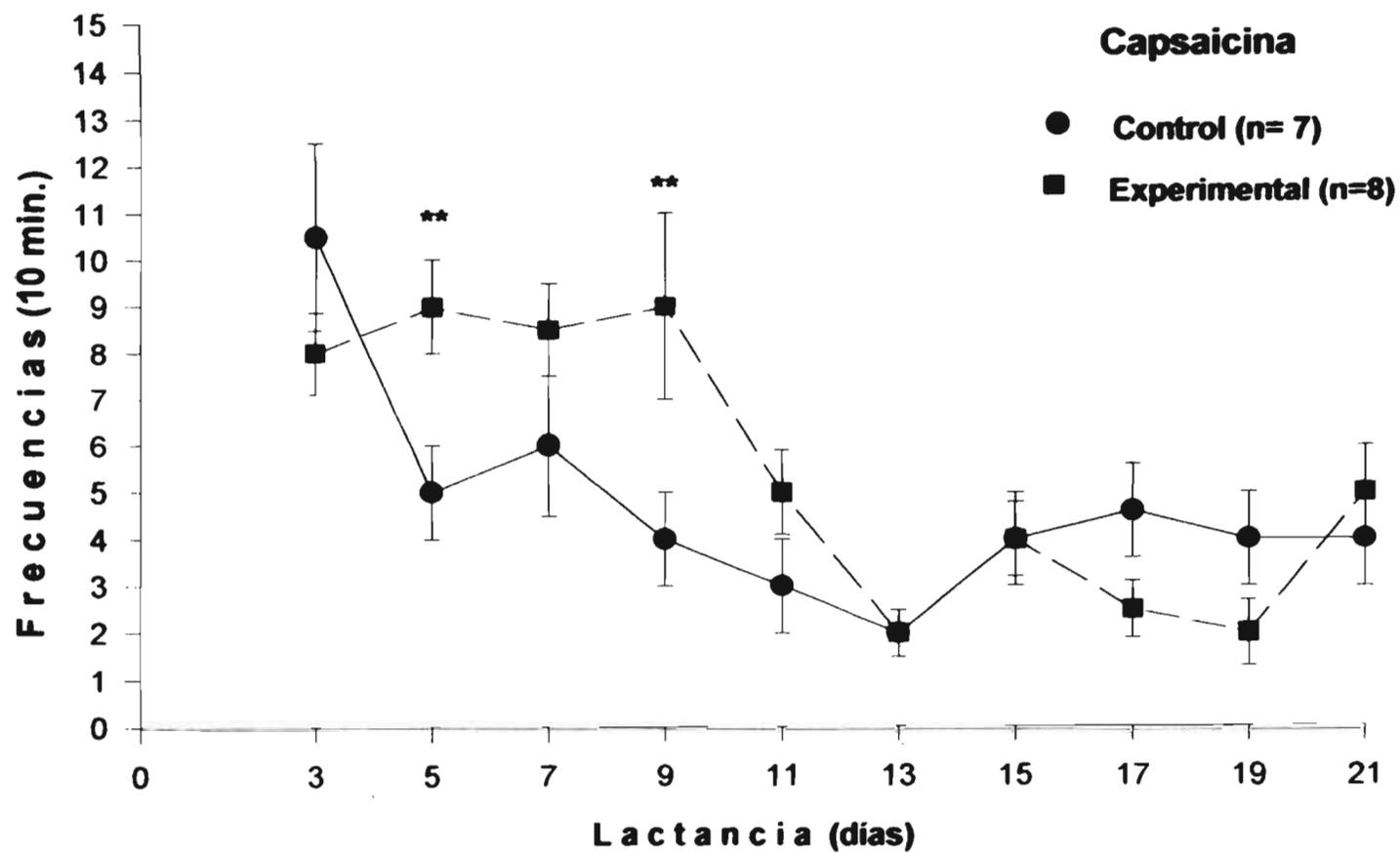


Figura 10.4

Exploración Horizontal

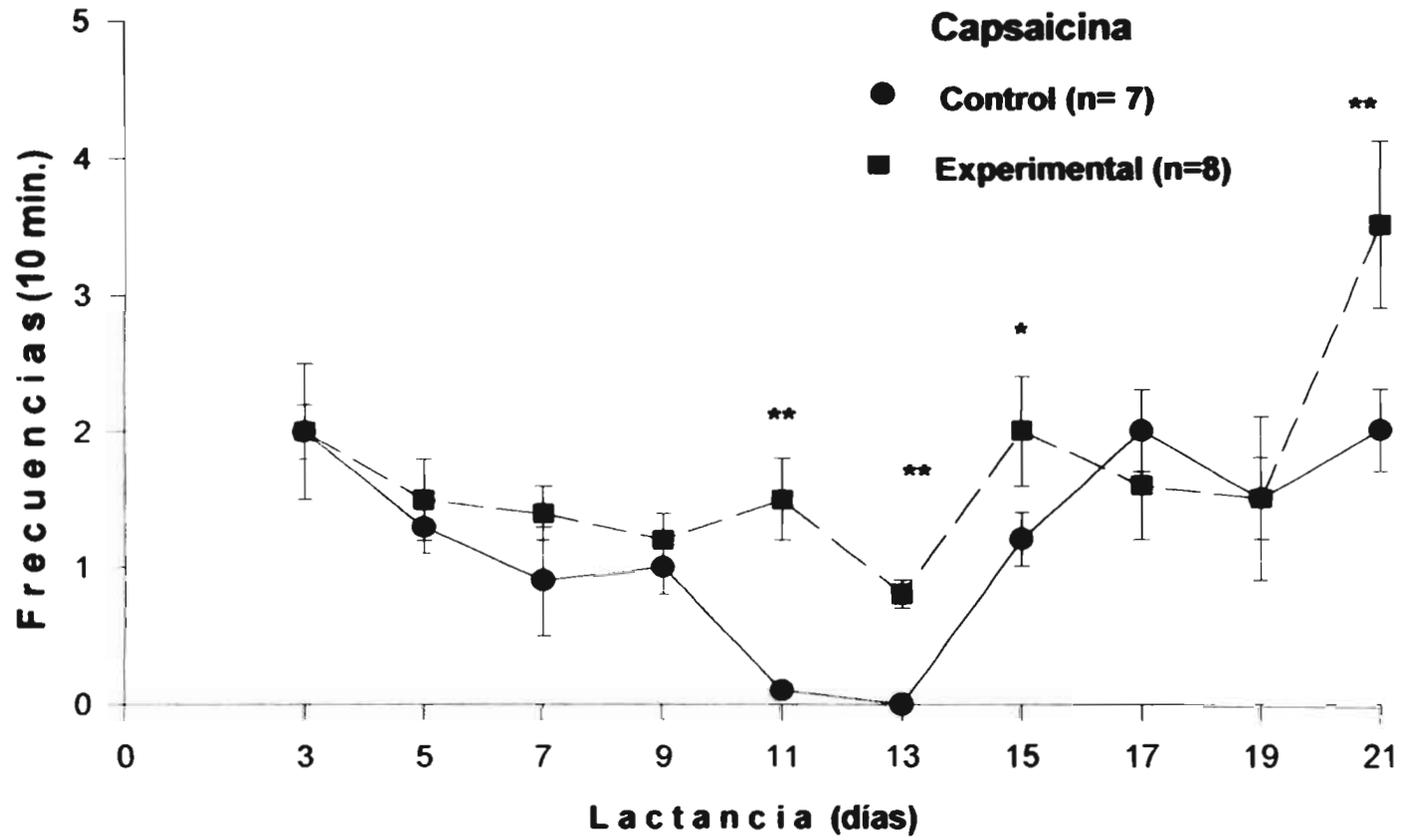


Figura 11.4

Exploración Vertical

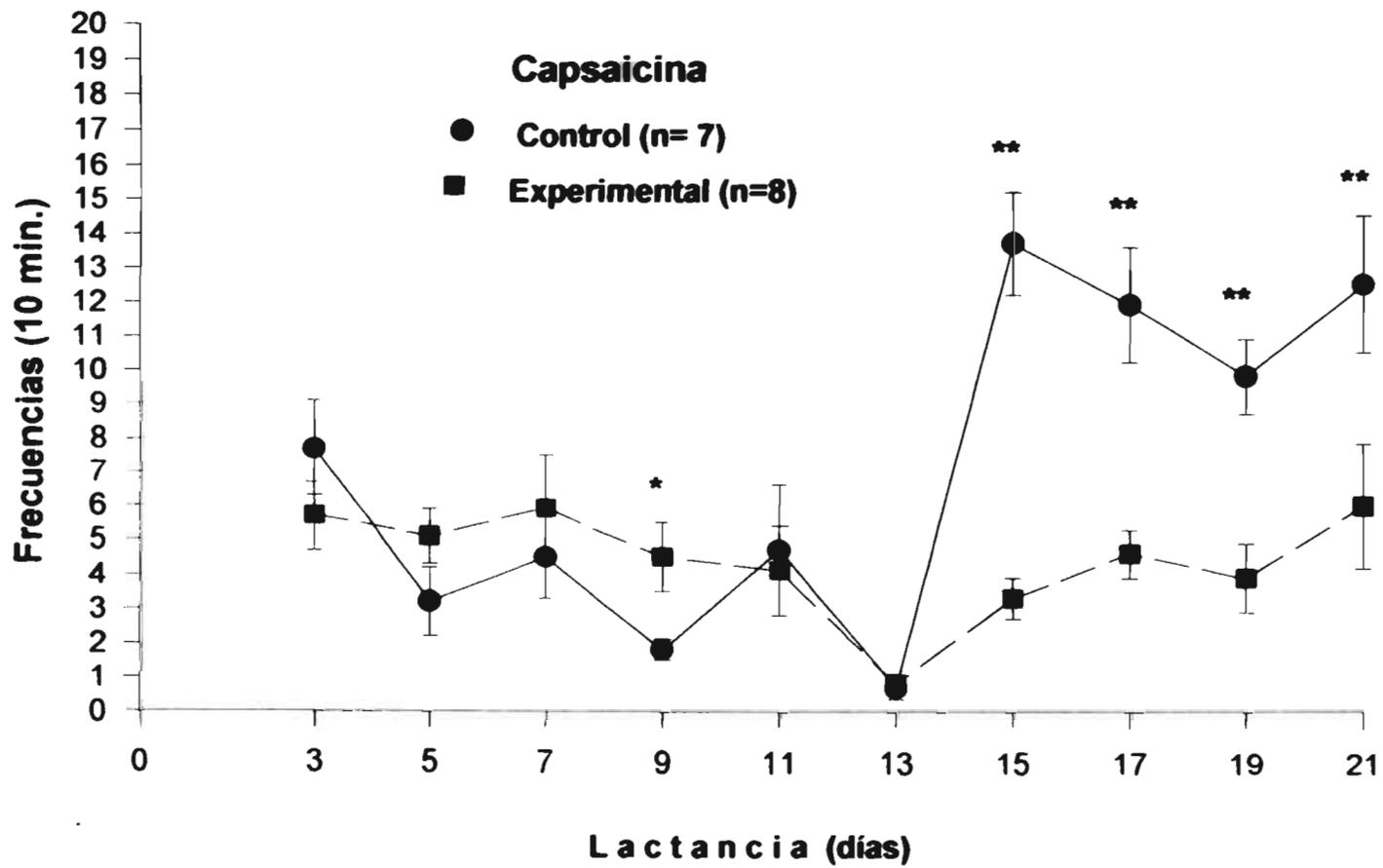


Figura 12.4

lactancia. Observamos que hasta antes del día 15, los valores de ambos grupos se distribuyeron de una manera muy similar. Sin embargo a partir del día 15 observamos un incremento súbito de las frecuencias mostradas por los animales control. Los animales experimentales muestran valores muy bajos desde el día 15 y hasta el final del estudio. En efecto, para los días 15, 17, 19 y 21 de la lactancia encontramos que existen diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$, en cada caso) (t de Fisher's).

El análisis de los datos obtenidos para la conducta de husmeo (gráfica de la figura 13.4) reveló que existen diferencias asociadas al tratamiento $F(1,14)=21.2$ $p < 0.005$. Para el factor asociado a la duración de la lactancia obtuvimos una $F(1,9)=3.5$ $p < 0.005$, mientras que la interacción resultante obtuvo valores de $F(1,9)= 98$ $p < 0.45$ (ns).

Cuando analizamos las frecuencias de la postura de quieto, mostradas por las hembras, siempre y cuando no estuvieran echadas sobre sus crías, encontramos que los escasos registros obtenidos no muestran diferencias debidas al tratamiento $F(1,14)=1.16$ $p < 0.29$ (ns). El factor asociado a la duración de la lactancia obtuvo valores de $F(1,9)=2.18$ $p < 0.05$, mientras que la interacción resultante también mostró ser no significativa para la ejecución de la postura de quieto $F(1,9)=2.10$ $p = 0.05$ (gráfica no incluida).

Por lo que respecta a la conducta de rascado ejecutado, graficamos la distribución de las frecuencias a lo largo de lactancia (gráfica de la figura 14.4). Cuando analizamos las probables diferencias asociadas al factor tratamiento obtenemos una $F(1,14)=21.09$ $p < 0.005$. Los valores obtenidos para las diferencias debidas al factor asociado a la duración de la lactancia fueron de $F(1,9)=13.12$ $p < 0.005$, mientras que la interacción obtuvo valores de $F(1,9)= 6.4$ $p < 0.005$. La gráfica 14.4 nos ilustra como se distribuyeron a lo largo de la lactancia las frecuencias registradas para el rascado. Encontramos que en los animales control las escasas frecuencias fueron siempre muy constantes. Mientras que frecuencias significativamente elevadas fueron ejecutadas por las hembras-Cap para los días 5, 7, 9 y 11 ($p < 0.05$ en cada caso) (t de Fisher's). En otro aspecto de la distribución observamos que, a partir del día 13, las bajas frecuencias mostradas por ambos grupos se mantuvieron para el resto del estudio.

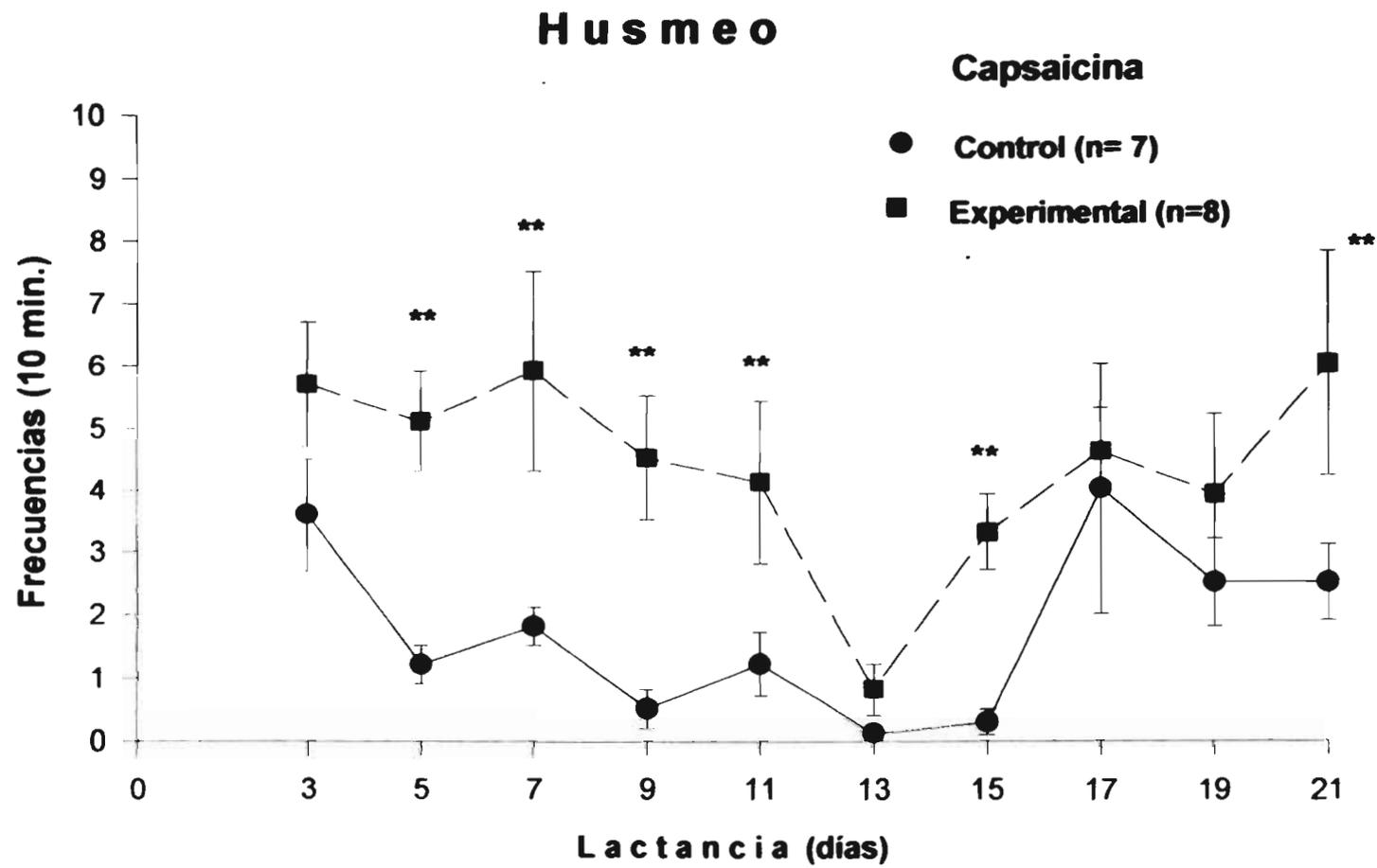


Figura 13.4

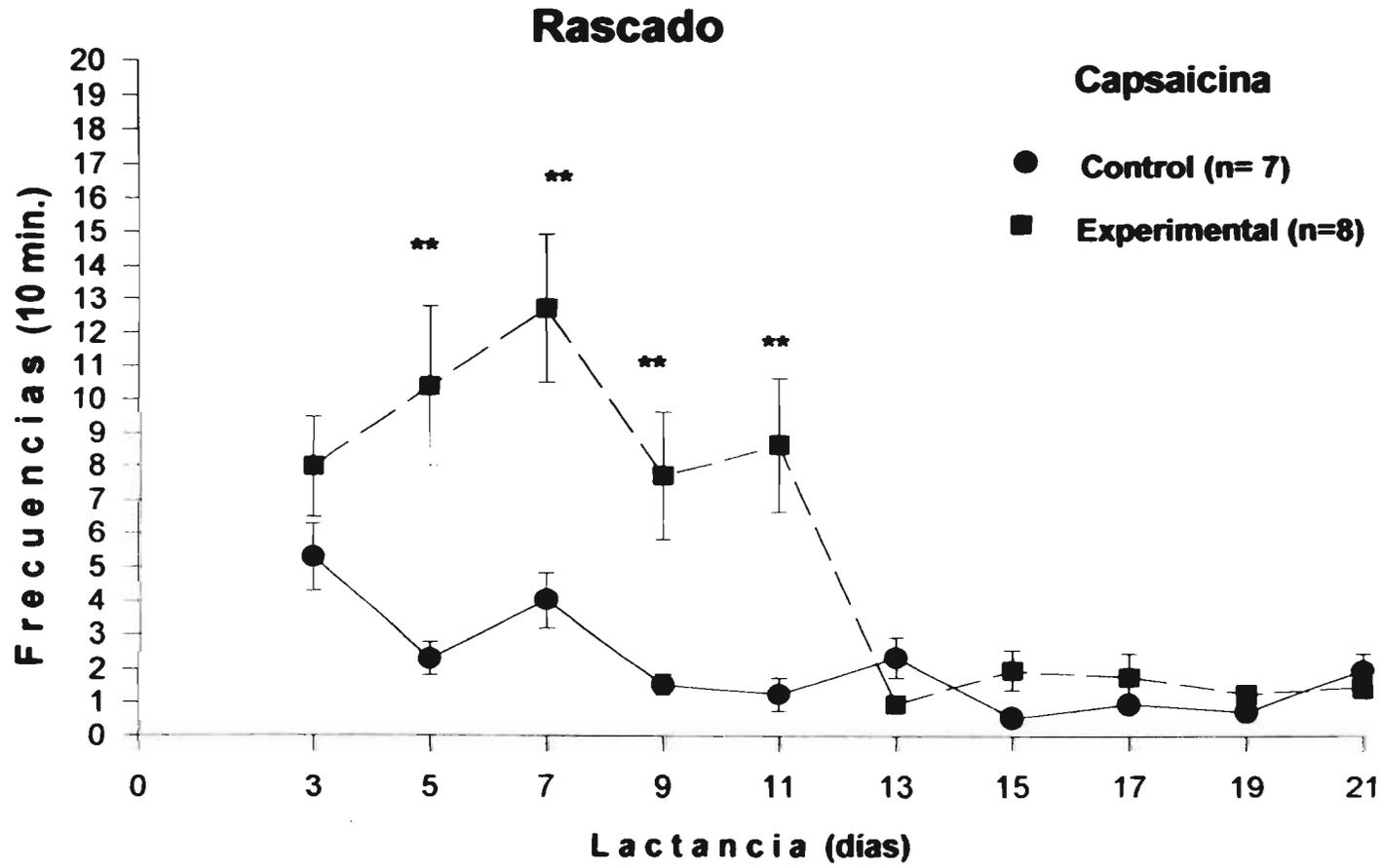


Figura 14.4

TABLA 2.4 RESUMEN DE RESULTADOS EXPERIMENTO 3. Capsaicina

5 MINUTOS PREVIOS AL ACARREO

PARAMETROS	REGISTROS**
AUTOASEO	↓
EXPLORACION VERTICAL	↑
HUSMEAR AL NIDO	↑
RASCADO	↑
ROER	↓

**diferencias significativas (ANOVA): los incrementos (↑) o decrementos (↓) son del grupo experimental vs su grupo control.

TABLA 3.4 RESUMEN DE RESULTADOS EXPERIMENTO 3. Capsaicina

CONDUCTA MATERNAL POSTPARTO

PARAMETROS	REGISTROS**
LATENCIAS DE ACARREO	↑
LATENCIAS PARA ECHARSE / CRIAS	↓
ECHADA SOBRE LAS CRIAS (FREC.)	↓ ↑
ECHADA SOBRE LAS CRIAS (TIEMPO TOTAL)	↓ ↑

****diferencias significativas (ANOVA): los incrementos (↑) o decrementos (↓) son del grupo experimental vs su grupo control.**

TABLA 4.4. RESUMEN DE RESULTADOS EXPERIMENTO 3. Capsaicina

OTRAS CONDUCTAS

PARAMETROS	REGISTROS**
AUTOASEO	↑ ↓
EXPLORACION HORIZONTAL	↑
EXPLORACION VERTICAL	↑ ↓

****diferencias significativas (ANOVA): los incrementos (↑) o decrementos (↓) son del grupo experimental vs su grupo control.**

DISCUSION

Experimento 3.

El análisis de la expresión de la conducta maternal postparto en hembras tratadas neonatalmente con el neurotóxico capsaicina (Cap), reveló que existen alteraciones importantes asociadas a la acción neurotóxica del fármaco

En el registro de la conducta espontánea de las hembras, durante los cinco minutos previos al inicio de la CM de acarreo, encontramos que las hembras tratadas neonatalmente con Cap tuvieron cambios significativos en las frecuencias de autoaseo. Mientras que durante la primera mitad de lactancia se registraron frecuencias significativamente menores en las hembras-Cap, para la segunda mitad de la lactancia las frecuencias fueron iguales para el grupo control y el experimental. Esto se debió fundamentalmente a que las hembras-Cap, incrementaron su frecuencias de autoaseo conforme avanzó la lactancia.

La conducta de autoaseo es ampliamente conocida como una actividad multifuncional en los roedores. Dentro del amplio espectro de funciones asociadas a su expresión se reconocen la limpieza del cuerpo (Borchelt, 1980), disminuir la irritación, ayudar en la termorregulación (Roberts y col., 1969; Tanaka y col., 1986), disminuir el estrés (Jolles y col., 1979) y aumentar la autoestimulación (Moore, 1986).

En un estudio previo, nuestro grupo de investigación mostró que la ejecución del aseó estaba disminuido en animales adultos tratados neonatalmente con el neurotóxico (Carrillo y col., 1994). Posteriormente, en un análisis más detallado de la ejecución del autoaseo en situaciones de elevación de temperatura ambiental, también describimos que el autoaseo se encontraba disminuido en los animales Cap (Camacho, 1995)

La evidencia anterior nos lleva a proponer que, las alteraciones encontradas en la ejecución del autoaseo corporal de las madres tratadas neonatalmente con Cap, se deben a alteraciones en la percepción somatosensorial. Particularmente las alteraciones estarían asociadas a alteraciones cutáneas, derivadas de la destrucción de fibras aferentes amielínicas asociadas a la termopercepción, actividad sensorial que está regulando importantemente la actividad conductual de las hembras que se encuentran lactando a sus camadas. Adicionalmente no descartamos que la piel distrófica de los animales, caracterizada por la presencia de heridas cefálicas cutáneas durante un periodo importante de su vida (Maggi y

col., 1987; Carrillo y col., 1997) también promueve alteraciones en la percepción cutánea y por lo tanto provoca alteraciones en conductas asociadas al mantenimiento de la piel como son el rascado (Carrillo y col., 1994) y el autoaseo.

Durante la prueba de conducta maternal de acarreo encontramos que las latencias de acarreo de las hembras-cap se elevaron significativamente. Aunado a este retardo en el inicio del acarreo de las crías, describimos alteraciones significativas en la manera como las hembras interaccionaron con sus crías en el ambiente del nido. Las hembras-Cap, a partir del día 13 de la lactancia, tuvieron latencias más cortas para echarse sobre sus crías. Una vez que las hembras estaban echadas fueron registradas en esta posición un mayor número de veces que el control, también a partir del día 13 de la lactancia. Concurrentemente, el tiempo total que las hembras estuvieron echadas sobre sus crías, a partir del segundo medio de la lactancia, fue mayor para las hembras-Cap. De lo anterior se desprende que entre el primer medio y el segundo de la lactancia, las hembras-Cap mostraron cambios significativos en los parámetros en la conducta de echarse sobre las crías.

El estudio de la CM en especies altriciales como la rata, ha mostrado que el grado de madurez sensorial y motriz influye importantemente en el tipo de cuidados maternos así como en su temporalidad (Numan, 1994).

Al momento del nacimiento, la mayoría de los roedores son inmóviles e incapaces de termorregular (Numan, 1994), de tal modo, para ayudar a su protección son mantenidos dentro de un nido. Cuando la madre se encuentra con sus crías en ese particular microambiente, generalmente está echada sobre su camada, cumpliendo dos propósitos fundamentales: por un lado alimentar a sus crías y por el otro transferirles calor. El análisis de este patrón maternal ha revelado que tiene frecuencias elevadas durante las dos primeras semanas de la lactancia; frecuencias que van disminuyendo gradualmente hasta cesar en el momento del destete (Leon y col., 1990, Numan, 1994).

La caracterización temporal de estos "eventos" ha revelado que si bien sus frecuencias no disminuyen, el tiempo total de la postura de echada sobre las crías, se decreta como consecuencia de que la duración de cada "evento" disminuye (Leon y col., 1985)

Es importante señalar que los datos de frecuencia y temporalidad que nosotros describimos para la conducta de echada sobre las crías no representan estrictamente la frecuencia y duración de las secuencias ("bouts"). No obstante, la distribución que encontramos en las hembras control, particularmente para las dos primeras semanas de vida es similar a lo reportado cuando, se analizan estrictamente las secuencias temporales de la postura de la hembra echada sobre las crías, los llamados "nest bouts". Por lo anterior apoyaremos nuestra discusión con la evidencia disponible en la literatura acerca del control temporal de las secuencias (bouts) de echada sobre las crías.

El extenso trabajo de Leon y col., ha mostrado que durante la primera semana postnatal, los estímulos provenientes de las crías, se asocian a mecanismos hormonales facilitadores, que entre otros, regulan la interacción madre-crias durante la lactancia. Alrededor de la segunda semana de vida, específicamente para la conducta de echarse sobre las crías, se ha mostrado que los factores asociados a la temperatura central ("core") de la madre intervienen para que un "bout" termine súbitamente (Leon y col., 1978; Leon, 1985a; Leon, 1985b, Leon, 1985).

Específicamente, se ha postulado que cuando en la madre la temperatura corporal (Leon y col., 1978) y/o hipotalámica (Woodside y col., 1980) se eleva, como consecuencia del contacto con las crías, se interrumpe una secuencia (bout) de estancia con ellas. En efecto, se ha visto que no obstante la cantidad de leche ingerida por las crías, es preferentemente la hipertermia que las hembras experimentan, lo que provoca la interrupción de la postura de echada sobre las crías (Adels y Leon, 1986).

Midiendo los diferentes cambios en la temperatura del vientre y en la temperatura central - esta última como indicio de temperatura cerebral - , Leon y col. 1978, encontraron que ante la elevación de la temperatura ventral (38.1°C) y/o a elevación de temperatura central (38.5°C), la madre abandona a las crías (Leon y col., 1990). Cuando esta hipertermia se previene, ya sea colocando a las madres en ambientes fríos o por continuo enfriamiento de las crías, las madres permanecen más tiempo en contacto con su camada, teniendo contactos muy largos (Leon y col., 1978). Por el contrario las madres hipertérmicas por ser colocadas en ambientes artificiales de temperatura elevada, terminan rápidamente los "bouts" (Leon y col., 1990).

Reduciéndose la carga de calor por remoción del pelaje de la madre se previene la hipertermia maternal aguda y se prolongan los contactos en el "bout". Incrementado la carga de calor maternal por separación quirúrgica de la cola - normalmente el apéndice más importante para la pérdida de calor - provoca hipertermia rápida y contactos cortos (Leon y col., 1978).

Un hallazgo importante refiere que el calentamiento subcutáneo o central decrementa el tiempo y frecuencia de los "bouts", pero sólo después de una latencia larga, mientras que el calentamiento del área preóptica induce una terminación rápida de los "bouts" (Woodside y col., 1980). Basándose en la evidencia de que existen neuronas cerebrales hipotalámicas que responden a cambios en la temperatura local (Boulant y Bignall, 1973) se sugiere que las madres pueden soportar la hipertermia periférica o central, pero terminan los contactos con sus crías una vez que la temperatura cerebral se incrementa (Leon y col., 1990)

En nuestro estudio, observamos que la interacción madre-crias, particularmente la mediada por la postura de echarse sobre las crías en el ambiente del nido, se alteró en las madres que fueron inyectadas neonatalmente con el neurotóxico Cap.

Los animales tratados durante la vida neonatal con Cap muestran alteraciones en su capacidad de termorregularse cuando son puestos en situaciones ambientales de temperatura elevada (Obál y col., 1983b; 1987; Hori, 1984). Durante esta disfunción termorreguladora, varios mecanismos autonómicos de defensa están involucrados, tales como la deficiencia de la respuesta vasodilatadora y el enfriamiento por salivación (Obál y col., 1979, 1980). De manera relevante para nuestros hallazgos, se ha descrito que la termorregulación en estos animales se encuentra alterada; los animales tratados con Cap no escapan de las temperaturas ambientales calurosas, ni usan el agua para enfriarse por evaporación, ni muestran conductas operantes de enfriamiento de la piel (Szołcsányi y Jancsó-Gábor, 1975; Obál y col., 1979, 1980; Hori Tsuzuki, 1981; Dib, 1983). El análisis sistemático de la disfunción termorreguladora después del tratamiento con Cap ha revelado que las alteraciones tienen características particulares. Así, algunas reacciones defensivas contra el calentamiento (como la vasodilatación) debidas a estímulos de bajo umbral, pueden ser provocadas utilizando estímulos de alto umbral. De lo anterior se ha concluido que el

tratamiento con Capsaicina lo que puede producir es un eventual cambio en el control de los umbrales de las reacciones defensivas ante el calentamiento (Obál y col., 1983; Hori, 1984).

Tomando en consideración las evidencias anteriores, tanto del control termal de la relación madre-crias como las alteraciones conductuales termorreguladoras provocadas por la administración neonatal de Cap, podemos proponer que debido a la incapacidad termorreguladora de las hembras-Cap, se producen las alteraciones encontradas en la interacción hembra-Cap y sus crias.

En lo que respecta a los mecanismos neurales, si bien nuestro estudio no contempló este tipo de análisis, la evidencia existente nos indica daños en estructuras y regiones del sistema nervioso, participantes en la percepción de estímulos térmicos y de control de respuestas de termorregulación.

Se ha descrito ampliamente que la degeneración provocada por el tratamiento con Cap, es entre otros, a nivel de los termosensores periféricos asociados a fibras amielínicas "C" (Hensel, 1974). De hecho se ha considerado que un mecanismo subyacente a la alteración termorreguladora en las ratas tratadas con Cap es la reducción de los termosensores periféricos y centrales (Obál y col., 1987, Camacho, 1995).

En este mismo sentido, usando a la rata de laboratorio como modelo, Hellon y col. (Hellon, 1983, Hellon y Taylor, 1982) han mostrado que existen al menos tres vías que se originan en la cara, tronco y escroto, y que llevan la información cutánea termal, hacia el sistema nervioso central. Se ha postulado que, particularmente los estímulos térmicos del vientre materno entran a la médula por el asta dorsal de la médula espinal, siguen hacia el rafe magno, y de ahí al área preóptica hipotalámica, tálamo y otras regiones del sistema nervioso (Gordon, 1993).

Como consecuencia de la administración neonatal de Cap, se han descrito alteraciones en la morfología y bioquímica de: tanto en el cuerno anterior de la raíz dorsal como en la población de neuronas termosensibles hipotalámicas (Holzer, 1991). Creemos que también estas alteraciones a largo plazo producidas por la Cap están participando en la generación de las alteraciones encontradas en la relación hembras-cap y sus crias.

Concurrente a estos cambios encontramos, que para las hembras-Cap las frecuencias registradas en la conducta de rascado se elevaron significativamente. Adicionalmente encontramos que el registro de la postura de quieto también se aumentó en las hembras tratadas neonatalmente con Cap.

Por lo que respecta a la conducta de rascado, nuestro grupo de investigación demostró que como consecuencia del tratamiento neonatal con Cap, los animales incrementaban la frecuencia del rascado dirigido hacia el cuerpo y la cabeza (Carrillo y col., 1994). Describimos que a partir del día de vida 19 y hasta los 90 días de edad postnatal las frecuencias de rascado en los animales-Cap estaban significativamente aumentadas y que concurrente a esa alteración las animales mostraban heridas cefálicas (Carrillo y col., 1997). Los posibles mecanismos mediando la alteración conductual se han asociado a la participación de las fibras "C" en la modulación del rascado (Manzo y col., 1991) así como al hecho de que las heridas cefálicas produzcan exageradas respuestas por parte de los animales-Cap, en los cuales se han descrito alteraciones tróficas en la piel (Carrillo y col., 1997; Maggi, 1994) así como alteraciones en la percepción de estímulos nociceptivos térmicos (Pellicer y col., 1996).

Otra importante alteración encontrada en las madres tratadas neonatalmente con Cap, es que la frecuencia de exploración vertical disminuyó a partir del día 13 de la lactancia. Este hallazgo, por primera vez descrito para el contexto de la conducta maternal, contrasta con lo reportado para la conducta espontánea de animales alojados individualmente, donde esta exploración disminuye (Carrillo y col., 1994).

Diversos reportes, han descrito que esta conducta motriz puede estar asociada a cambios en la emotividad de los animales, así mismo se ha propuesto que al aumentar la superficie de contacto con el aire, los animales pueden perder más calor al adquirir la postura típica de la exploración vertical ("rearing"). Un análisis más detallado de esta conducta pero realizado bajo otras condiciones experimentales, podrá proponer conclusiones más pertinentes. Sin embargo es importante señalar que los cambios y distribución de la exploración horizontal estarían influenciados por la expresión de otras conductas exploratorias.

La distribución de las latencias para echarse sobre las crías, la frecuencia para encontrar a la madre sobre sus crías, el tiempo total empleado en esta postura y aún la distribución de las frecuencias de la conducta de exploración vertical, mostraron a lo largo de los registros una distribución particular: durante el primer medio de la lactancia los animales control tuvieron valores más altos (frecuencias de la postura de echada, tiempo total de la postura) o iguales al experimental-Cap (latencias para echarse). A partir del día 13 de la lactancia la distribución de las frecuencias cambió significativamente; las hembras experimentales-Cap tardaron ahora menos para echarse, lo hicieron más frecuentemente y estuvieron más tiempo en esa postura.

Adicionalmente a los mecanismos hormonales y de temperatura que modulan en la hembra la relación con las crías (comentados anteriormente), se ha reportado que existe uno que tiene que ver más con las características físicas de una camada; la maduración en el neonato de mecanismos conductuales y fisiológicos para termorregularse. En efecto esta capacidad ausente en el neonato durante las dos primeras semanas de la lactancia determina en gran medida que la madre este pendiente de mantener siempre a temperaturas de 33 a 35° C (temperatura que se ha registrado en el nido). Se ha encontrado que conforme la lactancia avanza, en las crías aparece el pelaje, se incrementa su capacidad para termorregular y entonces la madre progresivamente deja de estar con ellas en el nido (Grotta y Ader, 1969; Leon y col., 1978). Así entonces, se ha mostrado que la conducta de calentamiento de una camada es altamente sensitiva a la temperatura de las crías (Grotta, 1973).

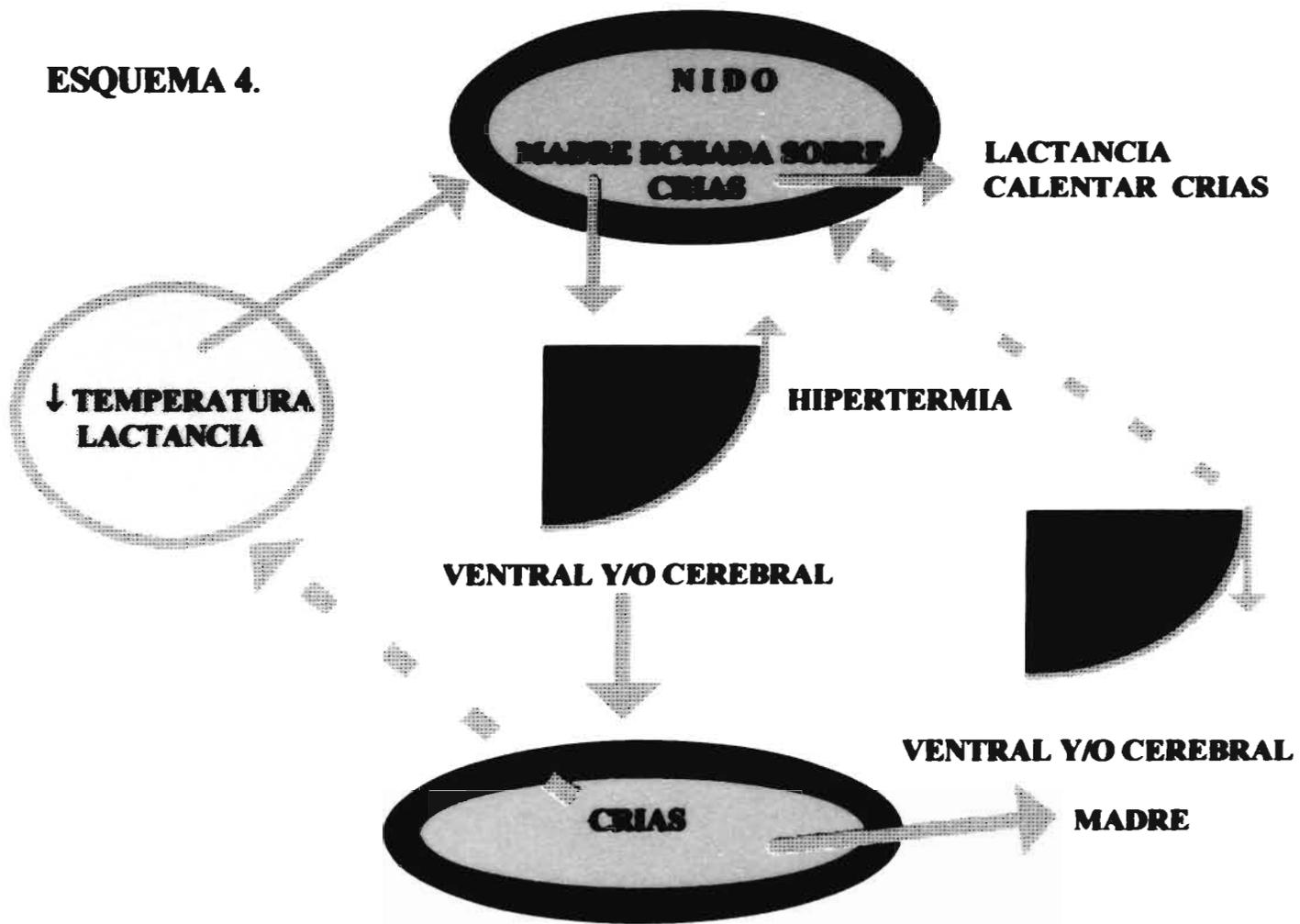
Proponemos así, que las alteraciones encontradas en las madres-Cap, específicamente aquellas de la relación madre-crias se deben entre otros, a la destrucción de unidades aferentes termosensibles; periféricas y a nivel de sistema nervioso central. Pensamos que las madres-Cap tienen una alteración importante, en el reconocimiento de la maduración de los mecanismos de termorregulación de las crías, por ello y específicamente durante el segundo medio de la lactancia, cuando esta capacidad se ha desarrollado, las hembras muestran un patrón errático para relacionarse con las crías en el nido, permaneciendo más tiempo con ellas por no percibir correctamente la temperatura de su camada.

Es evidente que estudios más detallados, de la relación madre-crias durante la lactancia, empleando diferentes técnicas de observación y diferentes estrategias ambientales, darán un panorama más completo de los mecanismos subyacentes a las alteraciones aquí encontradas.

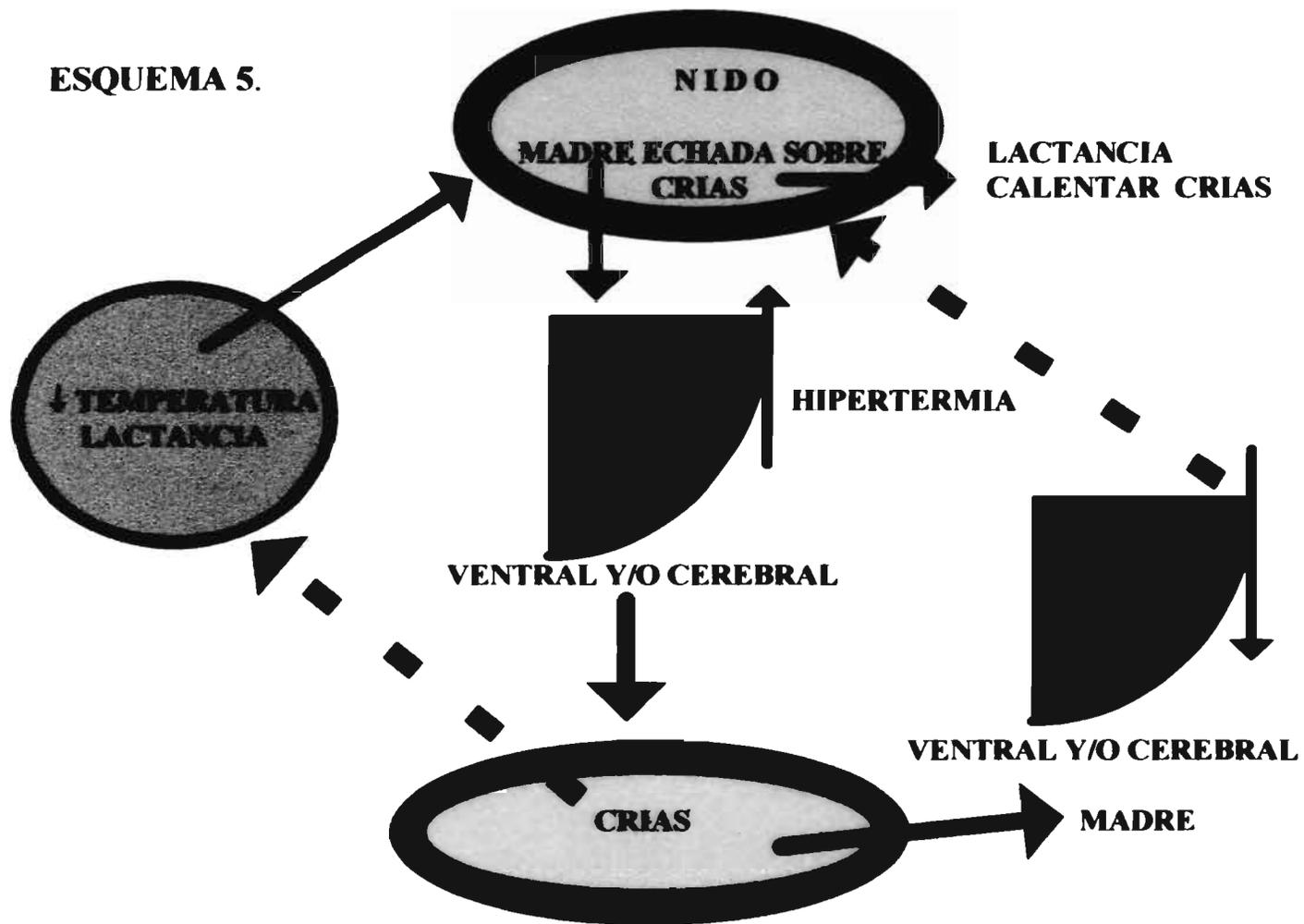
En el **esquema 4**, basado en uno previamente construido por Leon y col., 1990, presentamos un modelo conductual, que intenta sintetizar la evidencia experimental más importante acerca de los mecanismos que controlan y modulan la permanencia de la hembra en el nido estando echada sobre sus crias. Se sabe que diversos estímulos provenientes de las crias (círculo gris) tales como la alteración del ambiente del nido, el enfriamiento de las crias, o la demanda de la lactancia pueden provocar que la madre se acerque a sus crias y se eche sobre ellas en el ambiente del nido (cuadro azul). Algunos indicios han postulado que las crias pueden atraer a sus madres, emitiendo vocalizaciones ultrasónicas o bien que la madre, a través del olfateo cercano y continuo de sus crias, pueda monitorear su temperatura. Estando la madre en el ambiente del nido (cuadro azul), lacta a su camada además de transferir calor a las crias. Cuando la temperatura del vientre de la madre, y más específicamente cuando la temperatura cerebral se eleva, hipertermia (arco ascendente morado), las madres se separan de sus crias. Las crias permanecen en el ambiente del nido (cuadro azul inferior) y la madre, apartada empieza a perder el exceso de temperatura (arco descendente morado). Cuando esto último ocurre y/o cuando las crias demandan el cuidado o alimento maternal la hembra reanuda nuevamente la postura de echada para estar con sus crias en el ambiente del nido.

En el **esquema 5** intentamos, a partir de nuestros hallazgos, proponer explicaciones para los cambios que la administración de Cap produjo en la expresión de la Conducta Maternal, partiendo ahora del esquema propuesto para las hembras intactas. Nuestros hallazgos nos llevan a postular que la administración neonatal de capsaicina interfiere con la relación madre-crias en el ambiente del nido: durante el segundo medio de la lactancia, cuando las madres control empiezan a dejar el nido con mayor prontitud y permanecen menos tiempo sobre sus crias, las madres-Cap siguen presentando la postura de echada sobre sus crias.

ESQUEMA 4.



ESQUEMA 5.



Proponemos que existen al menos dos factores que favorecen lo anteriormente descrito: por un lado las madres-Cap, como consecuencia del tratamiento con el neurotóxico pueden tener alterado el sustrato neural que monitorea la temperatura ventral y/o cerebral, así la hipertermia que modula el tiempo de la interacción madre-crias en el nido, o es ahora un proceso que requiere de mayor tiempo para su detección (alargamiento del arco morado con flecha hacia arriba) o bien se necesitan elevaciones mayores en la temperatura ventral y/o cerebral para que las madres-Cap detecten la hipertermia y entonces se separan de sus crías. Ya aislada del ambiente del nido y de sus crías (circulo azul) la madre, como consecuencia del tratamiento neonatal con Cap, necesitaría menos tiempo para recuperar su temperatura corporal y regresar al nido.

Es importante considerar que no descartamos otro tipo de alteraciones que, hasta no ser evaluadas correctamente, no podrán ser excluidas como procesos subyacentes asociados a la alteración de la conducta maternal postparto en hembras tratadas neonatalmente con el neurotóxico Cap.

Finalmente, es necesario puntualizar que lo que describimos en este estudio son efectos de la capsaicina en el largo plazo, sobre una de las conductas más importantes para la sobrevivencia de los neonatos en las especies altriciales; la conducta maternal.

VIII. DISCUSION GENERAL

En el presente estudio, los cambios reportados durante el registro de la conducta maternal de ratas adultas de la cepa Wistar, son indudablemente también el resultado de alteraciones neurales a largo plazo, producidas tanto por la presencia de la desnutrición durante la lactancia, como por la administración neonatal del neurotóxico Capsaicina.

En esta discusión general integramos, dentro del circuito neural regulador de la conducta maternal (**esquema 6**), propuesto específicamente para la rata albina, las evidencias del daño neural provocado por los procedimientos que utilizamos para interferir con el desarrollo postnatal temprano del sistema nervioso de esta especie altricial, la desnutrición (**esquema 7**) y la administración de capsaicina (**esquema 8**) respectivamente.

Esperamos que la descripción de las evidencias provenientes de estudios neuroanatómicos, junto con las evidencias conductuales, ampliamente referidas en las discusiones particulares desarrolladas en esta tesis para cada experimento, resulten en una mejor comprensión de los cambios conductuales que aquí describimos. Además intentamos dar al lector una perspectiva más amplia de adonde podrían orientarse las preguntas de investigación que intenten estudiar las bases neurales de la alteración en la conducta maternal, provocada tanto por la desnutrición durante la lactancia, como por la administración perinatal del neurotóxico Capsaicina.

El estudio de las bases neurales de la conducta maternal ha revelado que las lesiones que comprometen más del 40 % de la corteza cerebral (CC), producen déficits severos en las conductas de acarreo, amamantamiento y construcción del nido (Beach, citado por Numan, 1994). El análisis de estas lesiones, llevó a Beach a proponer que las alteraciones en la CM no estaban asociadas al sitio de la lesión, sino más bien al tamaño de las mismas. Esta idea ha sido apoyada por diversos estudios posteriores (Numan, 1994).

Otra región del SN que participa en el control de la conducta maternal es la que forman la corteza medial (corteza interhemisférica formada por la corteza límbica cingulada y el neocortex anterior medial), el hipocampo (H) y el septum (S). La lesión de cualquiera de estas estructuras, anatómicamente interconectadas, produce déficits similares en la expresión de la conducta maternal de la rata (Numan, 1994). Las alteraciones primariamente

observadas se identifican en la desorganización temporal y espacial de los patrones ejecutados por las madres.

Investigaciones recientes, han confirmado que las estructuras referidas son importantes para la correcta percepción espacial y la memoria temporal o para ciertos tipos de memoria que, quizás, son particularmente importantes para ejecución normal de la conducta espacial, que seguramente, resulta ser un componente muy importante para la expresión de la conducta maternal (Numan, 1994) (**esquema 6**).

Por lo que respecta al análisis de la participación de estructuras subcorticales, para el caso particular de la amígdala (A), se ha reportado que las lesiones en esta estructura, o en la estría terminal (ET) que la conecta con otras regiones cerebrales, no alteran la expresión de la conducta maternal en ratas hembras durante el postparto (Numan, 1994).

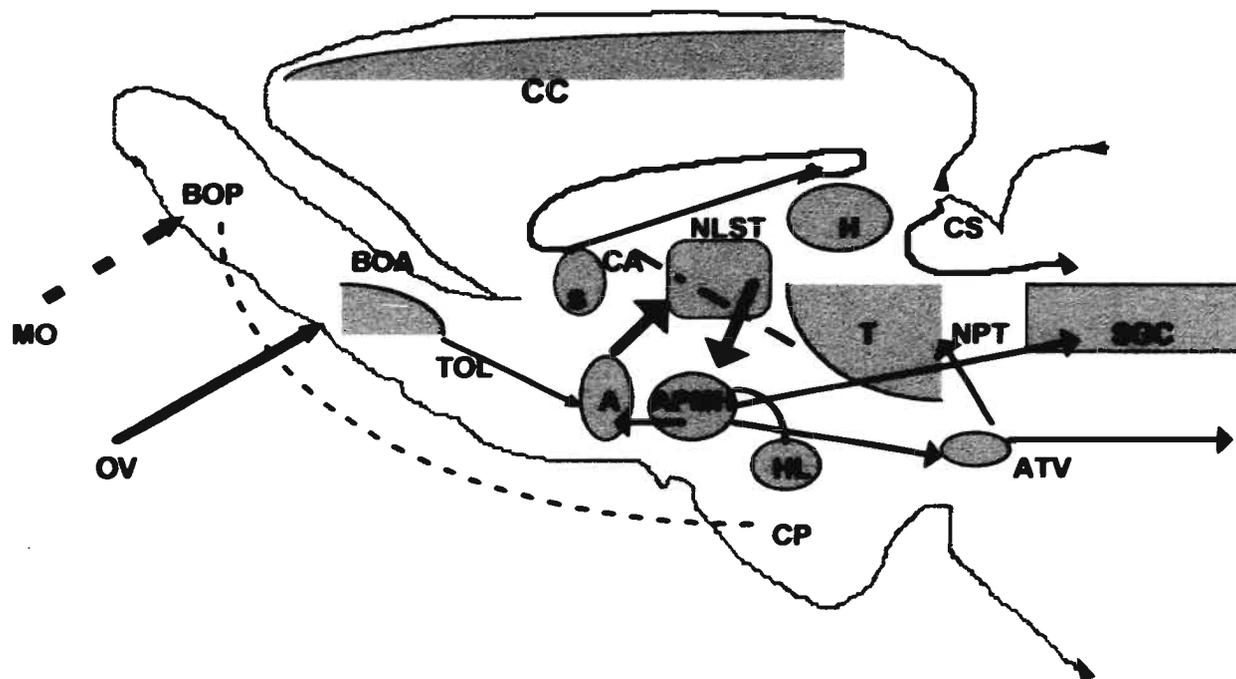
Estudios posteriores, utilizando como modelo experimental a hembras vírgenes maternalmente sensibilizadas, han reportado importantes evidencias sobre el posible papel inhibitorio de la amígdala (A) sobre la conducta maternal. De tal modo, Fleming y col., 1980, analizaron las latencias de sensibilización de hembras vírgenes lesionadas eléctricamente en la amígdala.

El hallazgo central fue que las latencias para mostrar conducta maternal, en el grupo de hembras lesionadas se acortaron considerablemente, registrándose una latencia promedio de 3 días para mostrar patrones de conducta maternal (Del Cerro y col., 1991; Numan y col., 1993; Fleming y col., 1980).

En particular, Numan, 1993, mostró que las lesiones amigdalinas con NMA, que destruye cuerpos celulares sin daño aparente sobre fibras de paso, produce el acortamiento de las latencias de sensibilización maternal. Particularmente este grupo describió que la lesión de la región medial amigdalina era la que producía los acortamientos más significativos. Así se sugirió que las neuronas de la región medial amigdalina son importantes para mantener la inhibición de la conducta maternal en hembras vírgenes (Numan, 1994).

Ya que es bien conocido que la amígdala (A) recibe aferencias desde el bulbo olfatorio accesorio (BOA) y el principal (BOP) y que aún la deaferentación olfatoria principal y accesorio facilita la responsividad maternal de hembras vírgenes, Fleming y col.

ESQUEMA 6. CIRCUITO NEURAL PROPUESTO PARA LA REGULACION DE LA CONDUCTA MATERNAL EN LA RATA HEMBRA .



Ilustramos algunas de las estructuras más importantes que se han estudiado en relación al control neural de la conducta maternal de la rata hembra. Mucosa olfatoria (MO), órgano vomeronasal (OV), bulbo olfatorio principal (BOP), bulbo olfatorio accesorio (BOA), tracto olfatorio lateral (TOL), amígdala (A), área preóptica medial hipotalámica (APMH), comisura anterior (CA), hipotálamo lateral (HL), septum (S), núcleo del lecho de la estría terminal (NLET), hipocampo (H), tálamo (T), núcleo posterior del tálamo (NPT), sustancia gris central (SGC), área tegmental ventral (ATV), corteza cerebral (CC).

1980-, propusieron que la entrada olfatoria quizás inhibía la conducta maternal en la rata utilizando sus conexiones con la amígdala (A) (Numan, 1994).

Cuando se analizan las relaciones anatómicas de la entrada olfatoria proveniente tanto del epitelio olfatorio (EO) como del órgano vomeronasal (OVN), dos aspectos muy importantes destacan; primero es claro que la entrada proveniente del órgano vomeronasal, que llega al bulbo olfatorio accesorio (BOA), es independiente de la vía proveniente de la mucosa olfatoria (MO) que llega al bulbo olfatorio principal (BOP) (Raisman, 1972). Segundo, la entrada olfatoria vomeronasal es la que alcanza, a través del tracto olfatorio lateral (TOL), la porción medial de la amígdala, sitio donde el daño eléctrico, acelera la aparición de la conducta maternal durante la sensibilización (Numan, 1994).

Es importante señalar que la facilitación de la conducta maternal observada después de lesiones amigdalinas es de similar magnitud a la observada después de lesionar los nervios vomeronasales (3 días para mostrar CM), sin embargo son más largas si se comparan con las latencias registradas después del daño combinado de nervios vomeronasales y de bulbo olfatorio (1 día de sensibilización para mostrar conducta maternal) (Numan, 1994).

Con base en la evidencia anterior se propuso una hipótesis de trabajo; estímulos químicos odoríferos novedosos provenientes de las crías de prueba, activan las conexiones centrales tanto del bulbo olfatorio principal como del accesorio, lo cual entonces produciría una influencia inhibitoria sobre la aparición de la conducta maternal en hembras vírgenes (Numan, 1994).

Cuando se examinan las proyecciones del amígdala corticomedial (A), se ha encontrado que esta estructura alcanza al área preóptica medial del hipotálamo (APMH), vía la estria terminal (ET) (DeOlmos, 1972; Kevetter, y col., 1981; Simerly y col., 1986). De tal modo, las lesiones de la ET, son igualmente efectivas en acortar las latencias para la ocurrencia de la conducta maternal en la rata (Fleming y col., 1980).

Así entonces se postula que la entrada vomeronasal quizás inhiba la conducta maternal de las hembras vírgenes deprimiendo la actividad del APMH (Numan, 1994)

Estudios posteriores han revelado que una de las vías por la cual la amígdala (A) corticomediales alcanza al APMH, y que también está involucrada en el control de la conducta materna, es la región medial del núcleo del lecho de la estria terminal (NLET), el cual proyecta hacia el APMH, postulándose entonces que el NLET puede ser parte del circuito neural a través del cual la entrada olfatoria influiría en la responsividad materna, afectando quizás las salidas del APMH (Numan, 1994).

En un reporte de investigación reciente, Numan y su grupo de trabajo examinaron con detalle la participación del NLET en la conducta materna. Particularmente analizaron la región ventral de esta estructura - región definida como la parte del NLET situada por debajo del cruce de la comisura anterior (CA) y que forma una región de entronque entre el APMH y el hipotálamo lateral (HL)-sustancia inominada, ubicándose dorsolateralmente a la primera y dorsomedial a la segunda (Ju y Swanson, 1988, citados por Numan y col., 1996).

Los estudios de este grupo, lesionando los cuerpos neuronales del NLET, mostraron claros déficits sobre la expresión de la CM en hembras postparto. Lesiones similares en la región dorsal del núcleo no produjeron ningún tipo de alteración (Numan y col., 1996)

Por su parte el marcaje anterogrado de la eferencias propias de la región ventral del NLET revelaron que éstas terminan en diversas regiones cerebrales. una gran cantidad de ellas fueron identificadas en el área tegmental ventral (ATV), unas terminando ahí y otras pasando caudalmente por ella para llegar a la región retrorublar y a la región ventrolateral de la sustancia gris periacueductal (SGP) (Numan y col., 1996). Es importante señalar que para el ATV ya se había mostrado que su lesión eléctrica producía déficits severos en la expresión de la conducta materna (Numan y Smith., 1984) y que aún lesiones en el núcleo accumbens (NA), sitio terminal de proyecciones eferentes del VTA, producen déficits en la expresión del acarreo materno de las crías (Hansen, 1994).

Esta evidencia tiene entonces relevancia para el trabajo de Numan, quien mostró que otras eferencias, provenientes de la región ventral del NLET alcanzan al núcleo accumbens y el núcleo paraventricular del tálamo. Cierta marcaje, aún por comprobarse, se refirió para la habenua lateral (Numan y col., 1996).

Otras proyecciones importantes identificadas para el NLET, incluyeron a la misma APMH, al septum lateral (SL) y a la región del núcleo ventromedial del hipotálamo (Numan

y col., 1996). Sitios para los cuales ya se había mostrado su participación en algunos aspectos de la conducta maternal (Fleischer y Slotnick, 1978; Wang y De Vries, 1993; Wang y col., 1994; Bridges y Mann, 1994).

De particular importancia, es la proyección que los autores encontraron para eferentes de la región ventral del NLST hacia el locus coeruleus y su región circundante. Asumiéndose que quizás, esta proyección fuese muy importante para el aprendizaje olfatorio que ciertamente ocurre durante la expresión de la conducta maternal. En efecto el locus coeruleus da origen a una entrada noradrenérgica hacia el bulbo olfatorio, la cual se ha demostrado está asociada al aprendizaje olfatorio (Brennan, Kaba y Keverne, 1990).

Por su parte, el APMH, se describió tempranamente como una estructura esencial en el circuito neural que controla la conducta maternal. Diversas evidencias se tienen que lesiones de radio frecuencia o electrolíticas, en esta zona hipotalámica alteran de manera importante la ejecución del acarreo, construcción del nido y conducta de lactancia en hembras postparto (Numan, 1974; Numan y col., 1977; Jacobson y col., 1980). La evidencia de que las lesiones del APMH producidas con el aminoácido neurotóxico NMA indican que son las neuronas propias del APMH y sus conexiones eferentes, las importantes para la ejecución de la conducta maternal.

En efecto el análisis detallado de los probables circuitos implicados en la regulación neural de la conducta maternal de la rata, ha mostrado que el APMH y las estructuras relacionadas con el sistema olfatorio principal y el sistema vomeronasal que con ella se conectan, juegan un papel central en la expresión de la conducta maternal durante el periodo de lactancia postparto o durante la sensibilización maternal de hembras vírgenes (Numan, 1994).

Las diversas estructuras que reciben la inervación eferente del APMH incluyen el área preóptica lateral, la amígdala (A), el septum (S), el hipotálamo lateral (HL), el hipotálamo posterior al APMH, la región habenuar, el área tegmental ventral (ATV) del cerebro posterior, la sustancia gris periacueductal, la región peripenducular del cerebro medio, la región pedúnculo pontina en el borde puente-cerebro medio y el núcleo del rafe (Chiba y col., 1985; Rizvi y col., 1992).

En particular las técnicas de corte con marcaje de HRP han mostrado que la relación APMH-ATV, están principalmente mediadas por las conexiones dorsolaterales del APMH, lo cual explica porque las lesiones del hipotálamo lateral (HL) son igualmente productoras de déficits en la expresión de la CM (Numan, 1994).

En cuanto a las eferentes del APMH que llegan al ATV se ha descrito que algunas de ellas pasan a través del ATV para llegar a sitios más caudales del tallo cerebral (Numan, 1994) (esquema 6).

Será muy importante el estudio detallado de la actividad de algunas de las estructuras citadas aquí para elucidar su participación en la regulación neural de la expresión de la CM en la rata hembra maternalmente activa durante la lactancia postparto o después de ser sometida al procedimiento de sensibilización con crías de corta edad.

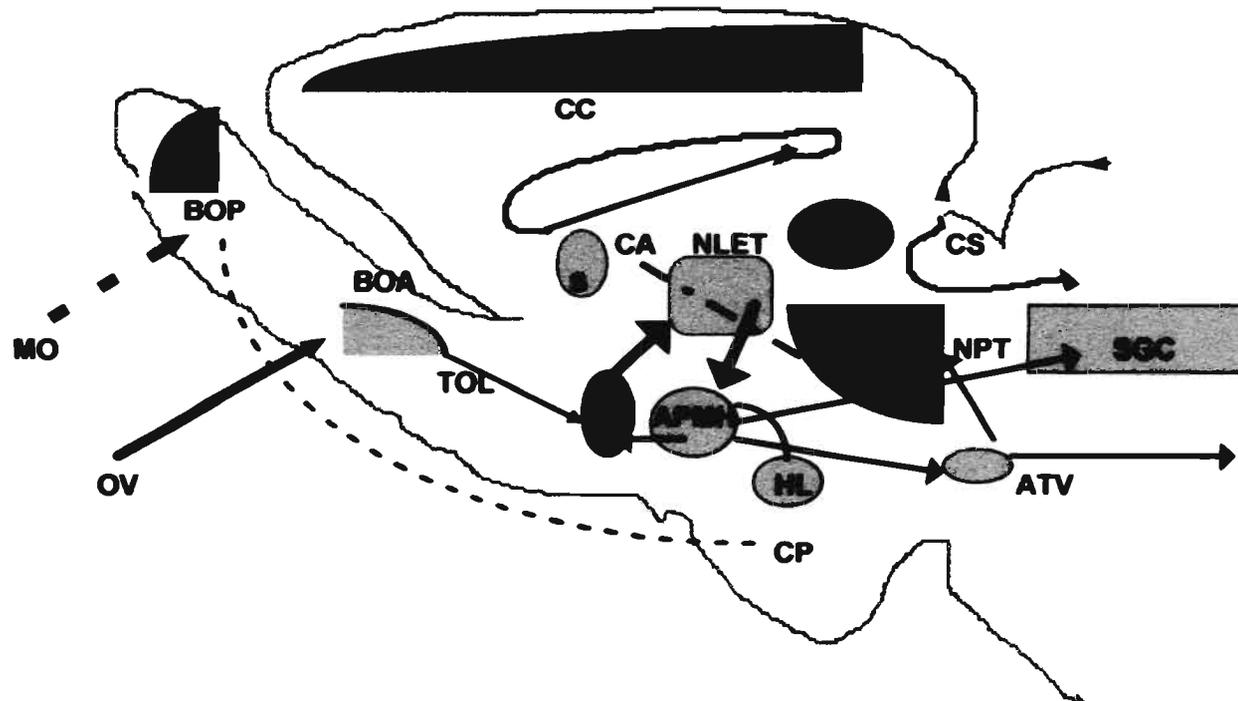
En el **esquema 6** ilustramos entonces, las principales estructuras propuestas en el circuito neural que controla la CM, así como sus principales conexiones aferentes y eferentes dentro de este circuito.

En el **esquema 7** ilustramos, nuevamente, las áreas cerebrales que participan en el control neural de la conducta maternal, pero ahora marcamos, con círculos rojos, las estructuras que se sabe son modificadas como consecuencia de presentarse periodos de desnutrición durante la lactancia de la rata.

Quizás de entre los primeros hallazgos neuroanatómicos reportados tenemos las alteraciones que se han descrito para la corteza cerebral de la rata desnutrida (Barnes y Altman, 1973; Sharma y col., 1987). Particularmente las alteraciones, caracterizadas por el empobrecimiento de los árboles dendríticos así como el diámetro axonal, se han descrito en el área sensitiva-motora (Bass y col., 1970; Wiggins y col., 1978). Nuestro grupo por su parte ha descrito la reducción morfométrica de las neuronas de la capa V- corteza frontal- (Salas y col., 1974; Salas y col., 1980)

Otra de las estructuras involucradas en el control neural de la conducta maternal que altera su morfología como consecuencia de la desnutrición neonatal es el hipocampo (H). Diversos reportes de investigación han mostrado que las neuronas hipocámpales se modifican como consecuencia de la desnutrición (Ahmad y col., 1987, Díaz-Cintra y col., 1992; Lewis y col., 1979).

ESQUEMA 7. CIRCUITO NEURAL PROPUESTO PARA LA REGULACION DE LA CONDUCTA MATERNAL EN LA RATA HEMBRA Y ESTRUCTURAS ALTERADAS POR LA DESNUTRICION.



Ilustramos algunas de las estructuras más importantes que se han estudiado en relación al control neural de la conducta maternal de la ratona hembra. Mucosa olfatoria (**MO**), órgano vomeronasal (**OV**), bulbo olfatorio principal (**BOP**), bulbo olfatorio accesorio (**BOA**), tracto olfatorio lateral (**TOL**), amígdala (**A**), área preóptica medial hipotalámica (**APMH**), comisura anterior (**CA**), hipotálamo lateral (**HL**), septum (**S**), núcleo del lecho de la estria terminal (**NLET**), hipocampo (**H**), tálamo (**T**), núcleo posterior del tálamo (**NPT**), sustancia gris central (**SGC**), área tegmental ventral (**ATV**), corteza cerebral (**CC**).

Por lo que respecta a la estructura amigdalina, nuestro grupo de investigación describió detalladamente los efectos de la desnutrición neonatal sobre la morfometría de esta región del lóbulo temporal. Describimos con detalle las alteraciones que se pueden observar en esta estructura si las ratas son sometidas a periodos de desnutrición neonatal (Escobar y col., 1993). Las principales reducciones en los parámetros morfométricos que hemos descrito se asignaron para la región basolateral, central y medial de los núcleos amigdalinos. Así la región involucrada en la regulación de la CM también se describió afectada (Escobar, 1993).

Por su parte, la entrada sensorial olfatoria, postulada como fundamental para regular la expresión de la CM durante la sensibilización, también se ha estudiado después de ser sometida la rata a desnutrición neonatal. Debassio y Kemper, 1985, mostraron que la citoarquitectura del bulbo olfatorio se altera por la desnutrición.

Finalmente, una estructura que ha recibido especial atención por el grupo de Diaz-Cintra y col., ha sido el locus coeruleus, que si bien no se ha analizado con detalle en relación a la conducta maternal, se ha postulado que su participación en ella puede ser importante. Cuando esta estructura se analiza neuroanatómicamente, después de que la rata ha sufrido periodos de desnutrición, se encuentra que tiene alteraciones importantes (Diaz-Cintra y col., 1984).

El **esquema 7**, nos muestra entonces algunas de las estructuras involucradas en la regulación neural de la CM y que son susceptibles al daño provocado por la presencia de desnutrición. Si bien es importante señalar que las evidencias neuroanatómicas citadas, son de análisis morfométricos de animales de corta edad, esto es, sin periodos de rehabilitación nutricional prolongados, como los de nuestros animales, no se puede descartar que sus alteraciones tempranas modifiquen su actividad funcional adulta, lo que se reflejaría en la ejecución errática de los patrones que caracterizan la CM de las especies altriciales como la rata.

Estudios detallados de estas estructuras a diferentes niveles, después de periodos prolongados de rehabilitación nutricional, podrán aportar evidencias más claras de su función y su participación en la regulación de la conducta maternal u otras en la rata.

El **esquema 8** nos muestra las áreas cerebrales ilustradas en la figura 6, pero ahora, en círculos verdes señalamos las estructuras que se han reportado susceptibles a la acción neurotóxica de la Capsaicina, cuando es administrada durante las primeras 48 horas de vida postnatal.

Las evidencias más consistentes de la degeneración observada tanto para cuerpos neuronales como para fibras, después del tratamiento con Capsaicina, han sido aportadas por el grupo de Ritter y Dinh, (ver anexos), quienes han descrito, utilizando la reacción argirofílica, que diversas zonas cerebrales presentan degeneración neural después del tratamiento neonatal con Capsaicina.

Así se ha reportado que la región preóptica media del hipotálamo, central para la expresión de la CM, se ve afectada por la acción neurotóxica neonatal de la Capsaicina (Ritter y Dinh, 1989;1984;1990;1992).

Para las estructuras encargadas de la neurotransmisión olfatoria, se ha reportado que la Capsaicina produce tinción indicadora de degeneración en el bulbo olfatorio accesorio y el tracto olfatorio lateral, principalmente en la zona de éste que es contigua al BOA (Ritter y Dinh, 1989; 1990).

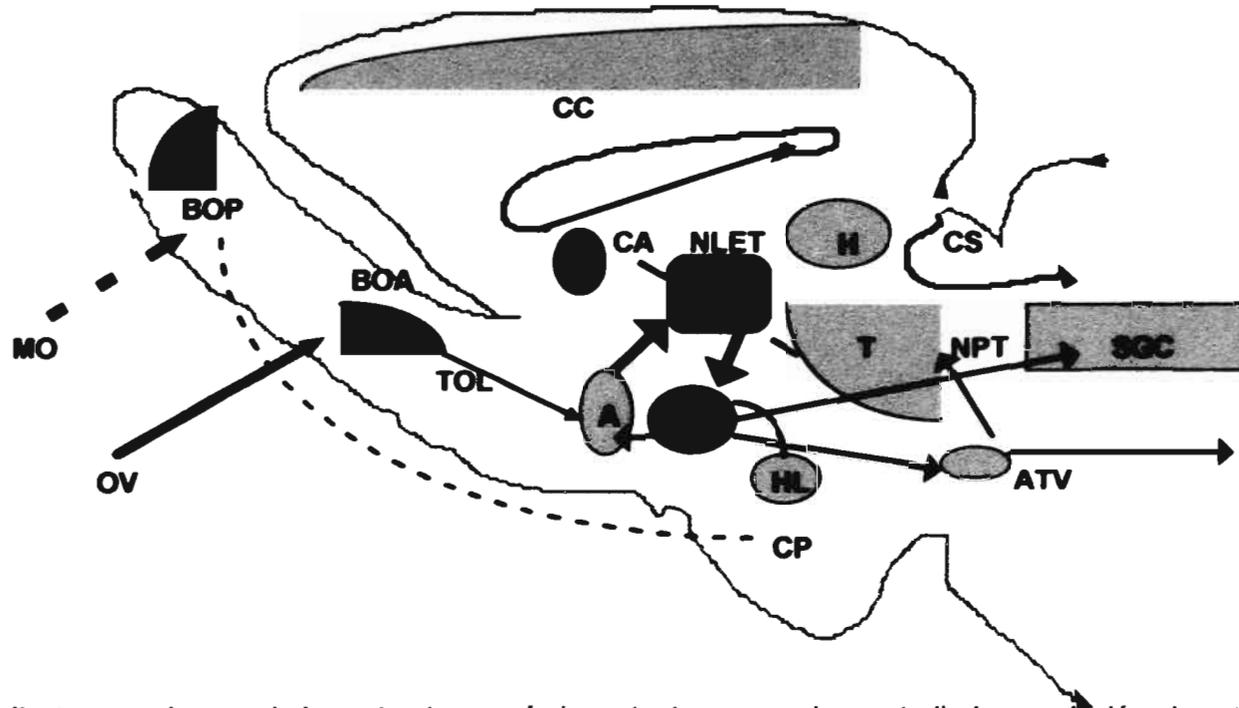
En el cerebro las evidencias de neurodegeneración abarcaron al núcleo preóptico medial, núcleo septal lateral (principalmente su región ventral) y al núcleo del lecho de la estria terminal así como a la concha accumbens (Ritter y Dinh, 1990). Alteraciones mitocondriales en el cuerpo neuronal de las neuronas del área preóptica hipotalámica se sumaron a las descripciones realizadas (Szolcsanyi y col., 1991).

Las descripciones de la degeneración hipotalámica provocada por la Cap. se observan inclusive cuando los animales son inyectados durante la vida adulta (Ritter y Dinh, 1990).

Si bien se han descrito alteraciones en muchas otras regiones cerebrales (ver anexo 2), las estructuras citadas aquí son las que tendrían mayor relación con el circuito neural regulador de la conducta maternal en la rata.

Es sorprendente que las estructuras citadas estén en íntima relación con los sistemas olfatorios e hipotalámicos. Para el primero de los casos, se han descrito diversos parámetros de actividad eléctrica del bulbo olfatorio, reducidos por la acción de la capsaicina, mientras

ESQUEMA 8. CIRCUITO NEURAL PROPUESTO PARA LA REGULACION DE LA CONDUCTA MATERNAL EN LA RATA HEMBRA Y ESTRUCTURAS ALTERADAS POR LA CAPSAICINA.



Ilustramos algunas de las estructuras más importantes que se han estudiado en relación al control neural de la conducta maternal de la rata hembra. Mucosa olfatoria (MO), órgano vomeronasal (OV), bulbo olfatorio principal (BOP), bulbo olfatorio accesorio (BOA), tracto olfatorio lateral (TOL), amígdala (A), área preóptica medial hipotalámica (APMH), comisura anterior (CA), hipotálamo lateral (HL), septum (S), núcleo del lecho de la estria terminal (NLET), hipocampo (H), tálamo (T), núcleo posterior del tálamo (NPT), sustancia gris central (SGC), área tegmental ventral (ATV), corteza cerebral (CC).

que hasta el momento ninguna evidencia de alteración olfatoria funcional se ha documentado en la rata como consecuencia de las modificaciones estructurales mostradas por la acción del neurotóxico.

Por lo que corresponde a la actividad hipotalámica, se ha descrito ampliamente que las ratas tratadas neonatalmente con Cap, no son capaces de regular su temperatura ambiental cuando son expuestas a ambientes de temperaturas altas (Buck y Burks, 1986), asignándose como causa central de esta disfunción el daño sobre las neuronas hipotalámicas termosensibles (Buck y Burks, 1988).

Adicionalmente a estas alteraciones se ha reportado que la capsaicina puede producir degeneración de terminales y cuerpos neuronales en el septum lateral y en la núcleo accumbens medial, estructuras relacionadas cercanamente al circuito que controla la CM (Ritter y Dinh, 1990).

El **esquema 8** nos indica entonces que la capsaicina es capaz de dañar estructuras cercanamente relacionadas al circuito funcional que regula expresión de la conducta maternal de la rata.

Será muy importante que investigaciones puntuales, analizando la morfología de estas regiones, después del tratamiento con capsaicina, nos indiquen el tipo de daño neuronal y su posible correlación con alteraciones funcionales.

IX. CONCLUSIONES PARTICULARES

Experimento 1. Hembras DxP vs grupo control

- El aislamiento de las crías en una incubadora (DxP), doce horas diarias durante la lactancia (21 días), provocó la disminución del peso corporal. A pesar del periodo de rehabilitación nutricional implementado (dos meses y una semana después de la lactancia), las hembras experimentales DxP no recuperaron totalmente su peso corporal.
- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo retardos significativos para registrar la aparición del primer acarreo de las crías, cuando las hembras adultas neonatalmente desnutridas cursaron por un periodo de sensibilización maternal (7 días). Para las observaciones de las 0900 hr y las 1900 hr, en el grupo de hembras DxP registramos el primer acarreo a partir del día S5, cuando ya todas las hembras control lo habían ejecutado. Para las 0900 hr en dos hembras DxP no se registró la conducta de acarreo y para las 1900 hr sólo en una hembra DxP no se registró.
- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo retardos significativos en la aparición del acarreo de todas las crías, esto durante la sensibilización maternal de las hembras adultas desnutridas neonatalmente. Para las 0900 hr, en las hembras DxP este acarreo se registró a partir del día S6, cuando ya el 90 % de todas las hembras control lo habían mostrado. En siete hembras DxP no se registró el acarreo para todas las crías en la misma sesión (0900 hr). Para las observaciones de las 1900 hr, el registro se obtuvo a partir del día S5, cuando ya el 50 % de todas las hembras control lo habían mostrado. En cinco hembras DxP no se registró el acarreo para todas las crías en la misma sesión (1900 hr).
- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo reducciones significativas en el número total de crías acarreadas, esto durante la sensibilización maternal de hembras adultas neonatalmente desnutridas. Para los registros de las 0900 hr y las 1900 hr, (S5, S6 y S7) encontramos que el número de crías acarreadas por las hembras control fue cercano al 100 %, mientras que en el grupo de desnutrición (DxP) el promedio de crías acarreadas fue siempre menor al 75 %.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo aumentos significativos en las latencias para iniciar el acarreo de crías, esto durante la sensibilización maternal de hembras adultas neonatalmente desnutridas. Durante todas las observaciones de las 0900 hr (S1-S7) en el grupo control registramos latencias menores al minuto, en contraste para el grupo de hembras desnutridas neonatalmente (DxP) las latencias se elevaron significativamente para los días S6 y S7. Durante la observación de las 1900 hr también encontramos en el control latencias con valores promedios menores a 60 seg, en contraste las latencias mostradas por el grupo de hembras DxP se elevaron significativamente para los días S5, S6 y S7

-El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo alteraciones en la interacción de las hembras adultas neonatalmente desnutridas y las crías utilizadas durante un periodo de sensibilización maternal. Para las 0900 hr registramos disminuciones significativas en la frecuencia del aseo a las crías por parte de las hembras DxP. En contraste, para los registros de las 1900 hr encontramos aumentos en la frecuencia de aseo a las crías por parte del grupo DxP.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo reducciones significativas en las frecuencias de la postura adoptada por las hembras para permanecer echadas sobre las crías. A lo largo de la sensibilización maternal, observaciones de las 0900 hr y 1900 hr, encontramos que las hembras DxP se registraron con disminuciones significativas en la frecuencia de registro de esta postura.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo alteraciones en la conducta de enterramiento de crías con aserrín cuando las hembras adultas, neonatalmente desnutridas, fueron sometidas a un periodo de sensibilización maternal. A lo largo de la sensibilización (S2, S4 y S5) pero sólo en el registro de las 0900 hr, las hembras experimentales tuvieron aumentos significativos en el enterramiento de las crías

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo alteraciones en la conducta de husmeo de crías cuando las hembras adultas, desnutridas neonatalmente, se sometieron a un periodo de sensibilización maternal. Encontramos, sólo para los registros de las 0900 hr (S4-S7) incrementos significativos del husmeo de crías por parte de las hembras DxP.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo alteraciones en la interacción del binomio hembra-crias a lo largo del periodo de sensibilización maternal de hembras vírgenes adultas neonatalmente desnutridas. Registramos en las observaciones de las 1900 hr (S5-S7), incrementos en la frecuencia de manipulación de las crías.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP resultó en alteraciones de la conducta exploratoria, a lo largo del periodo de sensibilización maternal de hembras adultas desnutridas neonatalmente. Encontramos para los registros de las 0900 hr (S5, S6) y de las 1900 hr (S2, S3, S5), aumentos significativos en las frecuencias de exploración horizontal sólo en el grupo DxP.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo alteraciones en la conducta exploratoria de hembras sometidas a un periodo de sensibilización maternal durante la etapa adulta. Registramos, para las 0900 hr (S3-S6) y las 1900 hr (S4-S6), aumentos significativos en las frecuencias de la postura de exploración vertical en el grupo de hembras DxP.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo alteraciones en la conducta exploratoria cuando hembras neonatalmente desnutridas fueron sometidas a un periodo de sensibilización maternal durante su vida adulta. Para las 0900 hr (S1, S3-S5) y las 1900 hr (S1-S7) encontramos disminuciones significativas en el husmeo del grupo de hembras DxP.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo alteraciones a largo plazo en la conducta de alimentación de hembras adultas sometidas a un periodo de sensibilización

maternal. Encontramos para las 0900 hr (S2-S7) y las 1900 hr (S1-S2, S5-S7) aumentos significativos en la conducta de roer en el grupo de hembras DxP.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo, durante la sensibilización maternal de hembras adultas neonatalmente desnutridas, y sólo en las observaciones de las 0900 hr (S4, S5) una reducción significativa de la postura de quieto en el grupo DxP

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo alteraciones en la conducta de autoaseo, durante la sensibilización maternal de hembras adultas neonatalmente desnutridas. Registramos para el grupo de hembras DxP, aumentos significativos del autoaseo a las 0900 hr (S1, S7) y las 1900 horas (S2)

Experimento 2. Hembras DxL vs grupo control

- La lactancia (21 días) de camadas de rata (Cepa Wistar) utilizando secuencialmente madres intactas (12 hr) y madres ligadas de los conductos galactóforos (DxL) (12 hr), produce la disminución del peso corporal de las crías. A pesar de un periodo de rehabilitación nutricional (dos meses y una semana) las hembras criadas de esta manera no recuperaron totalmente su peso corporal.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo retardos significativos para registrar el primer acarreo de crías cuando las hembras adultas, desnutridas neonatalmente, cursaron por un periodo de sensibilización maternal (7 días). Para el 30 % de las hembras DxL (0900 hr), el primer acarreo se registró en el día S5, cuando ya el 80 % de las hembras control lo habían realizado, para dos hembras DxL esta ejecución no fue registrada. Durante las 1900 hr el primer acarreo del grupo experimental se retardo un día, en dos hembras de este grupo no registramos conducta de acarreo.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo retardos significativos en la aparición del acarreo de todas las crías, durante el periodo de sensibilización maternal de hembras adultas desnutridas neonatalmente. Durante la observación de las 0900 hr. para el grupo DxL, este acarreo se registró a partir del día S5, cuando ya el 50 % de las hembras control lo habían ejecutado. En cuatro (40 %) hembras DxL no se registró el acarreo para todas las crías en la misma sesión (0900 hr). Para la sesión de las 1900 hr, en el grupo DxL este acarreo se registró a partir del día S5, cuando ya el 50 % de las hembras control lo habían mostrado. En el 30 % de las hembras DxL no se registró el acarreo para todas las crías en la misma sesión (1900 hr)

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo reducciones significativas en el número total de crías acarreadas, esto durante un periodo de sensibilización maternal de hembras adultas desnutridas neonatalmente. Para los registros de las 0900 hr (S4-S7) y las 1900 hr (S2-S6), encontramos que el número de crías acarreadas por las hembras en el grupo de desnutrición (DxL) fue siempre menor con respecto de su control

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo aumentos significativos en las latencias para iniciar el acarreo de crías, esto durante un periodo de sensibilización maternal de hembras adultas desnutridas neonatalmente. Durante las observaciones de las 0900 hr (S2-S7), en el grupo control se registraron latencias menores al minuto, en contraste las latencias registradas para el grupo de hembras desnutridas neonatalmente (DxL) se elevaron significativamente (S5-S7). Para las 1900 hr encontramos en una distribución similar a la anterior, latencias más largas en el grupo DxL (S6,S7).

-El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo alteraciones en la interacción de hembras adultas y las crías utilizadas durante un periodo de sensibilización maternal de hembras desnutridas neonatalmente. A las 0900 hr (S4) registramos disminuciones significativas en el aseo de las crías por las hembras DxL. Registros similares indicaron, para las 1900 hr, una reducción significativa en el día S6

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo reducciones significativas en las frecuencias de registro de la postura adoptada por las hembras adultas para permanecer echada sobre la crías a lo largo de la sensibilización maternal. Registramos para las 0900 hr (S4-S6) y las 1900 hr (S3-S6) disminuciones significativas en esta postura por parte de las hembras DxL.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo alteraciones en las frecuencias de la conducta de enterramiento con aserrín de las crías, esto cuando las hembras adultas fueron sometidas a sensibilización maternal. Durante los registros de las 1900 hr (S5, S6, S7) las hembras experimentales DxL tuvieron aumentos significativos en la conducta de enterramiento de crías.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo cambios en la conducta de husmear a la crías cuando las hembras adultas fueron sometidas a un periodo de sensibilización maternal. Encontramos, sólo en los registros de las 0900 hr (S6,S7) incrementos en el husmeo de las crías por parte de las hembras DxL.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL resultó en alteraciones de la conducta exploratoria de hembras adultas sometidas a un periodo de sensibilización maternal. Encontramos para las 0900 hr (S3) disminuciones significativas en la exploración horizontal para el grupo DxL. Para las observaciones de las 1900 hr, sólo en el día S1, los registros del grupo DxL fueron inferiores al de su grupo control.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo alteraciones en la conducta exploratoria de hembras adultas sometidas a un periodo de sensibilización maternal. Registramos para las 0900 hr (S3-S6) aumentos significativos en la exploración vertical del grupo DxL.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo alteraciones en la conducta exploratoria de hembras adultas sometidas a un periodo de sensibilización maternal. Durante

las observaciones de las 0900 hr (S2) encontramos disminuciones significativas en la conducta de husmeo por parte del grupo DxL.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo alteraciones en la conducta de alimentación de hembras adultas DxL sometidas a un periodo de sensibilización maternal. Encontramos, en ambas sesiones de observación 0900 hr (S2-S7) y 1900 hr (S1-S7), aumentos significativos en la conducta de roer en el grupo DxL.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo, durante la sensibilización maternal de hembras adultas (DxL), pero sólo en las observaciones de las 0900 hr (S4, S5,S7) aumentos de la postura de quieto en el grupo experimental DxL.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL produjo alteraciones en la conducta de autoaseo, durante la sensibilización maternal de hembras adultas (DxL). Registramos aumentos significativos en las frecuencias de esta acción conductual en las observaciones de las 0900 hr (S3-S5) y en las 1900 horas (S1-S5).

Hembras DxP vs Hembras DxL

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP provocó las mayores reducciones en el peso corporal de las hembras durante la lactancia. Esta misma tendencia se conservó durante todo el periodo de rehabilitación nutricional postlactancia practicado en las hembras.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP provocó las mayores alteraciones en la latencia para iniciar el acarreo de las crías durante la sensibilización maternal de hembras adultas. Durante las observaciones de las 1900 hr (S7) en las hembras DxP se registraron las latencias más largas para iniciar el acarreo.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP provocó las mayores alteraciones en la interacción del binomio hembra-crias durante la sensibilización maternal de hembras adultas desnutridas neonatalmente. En las observaciones de las 1900 hr (S5-S7) encontramos que las hembras DxP tuvieron las frecuencias más altas de aseo a las crias.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxL provocó las alteraciones más significativas en la interacción del binomio hembra-crias durante la sensibilización maternal. Para las observaciones de las 1900 hr (S3, S7) encontramos que las hembras DxL mostraron las frecuencias más altas de la conducta de enterrar con aserrin a las crias.

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo, durante la sensibilización maternal de hembras adultas, aumentos significativos en las frecuencias de husmeo dirigido a las crias por parte del grupo de hembras DxP, tanto para las 0900 hr (S4, S5) como a las 1900 hr (S3, S6).

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP, como parte de las alteraciones en la relación hembras-crias durante la sensibilización maternal de hembras adultas, produjo incrementos en las frecuencias de manipulación a las crias en el grupo DxP , 1900 hr (S5-S7).

- El procedimiento de desnutrición neonatal DxP produjo alteraciones en la conducta exploratoria de las hembras adultas sometidas a un periodo de sensibilización maternal. Para la sesión observacional de las 1900 hr (S2, S3, S5) encontramos aumentos significativos en las frecuencias de exploración horizontal.

- El procedimiento de desnutrición DxL produjo alteraciones en la conducta exploratoria de las hembras adultas sometidas a un proceso de sensibilización maternal. Para los registros de

las 1900 hr (S2, S3) encontramos aumentos significativos en las frecuencias de exploración vertical del grupo DxL.

- El procedimiento de desnutrición DxL produjo alteraciones en la conducta exploratoria de las hembras sometidas a un periodo de sensibilización maternal. Para los registros de las 0900 hr (S1, S2, S4) y las 1900 hr (S1, S2, S4) encontramos frecuencias elevadas para el grupo experimental DxL.

Experimento 3. Administración neonatal de Capsaicina

- La administración neonatal subcutánea del neurotóxico Capsaicina (50 mg/kg) provocó alteraciones en el peso corporal durante el desarrollo de las hembras. Reducciones significativas en el peso corporal del grupo de hembras Cap se obtuvieron para los días 40, 50 y 60 postparto.

- La administración neonatal de Capsaicina produjo alteraciones en la conducta de autoaseo de hembras adultas-Cap separadas de sus camadas. Durante los 5 minutos previos a la práctica del acarreo maternal encontramos decrementos significativos (días 5, 7 y 9) en el autoaseo del grupo de hembras Cap

- La administración neonatal de Capsaicina produjo alteraciones en la conducta exploratoria de hembras adultas separadas de sus camadas. Durante los 5 minutos previos a la práctica del acarreo maternal encontramos incrementos (día 7) y decrementos significativos (día 21) de la postura de exploración vertical en el grupo de hembras Cap.

- La administración neonatal de Capsaicina produjo cambios en la frecuencia de husmeo al nido por hembras separadas de sus camadas. Durante los 5 minutos previos a la práctica del

acarreo maternal encontramos incrementos (día 13 y 21 postparto) de esta conducta en el grupo de hembras experimentales.

- La administración neonatal de Capsaicina produjo incrementos en la frecuencia de la conducta de rascado (día 17 postparto) en las hembras separadas de sus camadas, cinco minutos antes de la práctica de la conducta maternal de acarreo.

- La administración neonatal de Capsaicina produjo disminuciones en la conducta de roer (días 11, 13 y 19 postnatal) en las hembras separadas de sus camadas, cinco minutos antes de la práctica del acarreo maternal.

- Durante el registro de la conducta maternal de acarreo de hembras adultas postparto, neonatalmente tratadas con Capsaicina, se observaron aumentos significativos en las latencias para iniciar el acarreo de las crías (días 5, 9 y 15 postparto).

- Después del acarreo de sus crías, las madres adultas tratadas neonatalmente con Capsaicina mostraron latencias más cortas (día 9 de la lactancia) para echarse sobre su camada. Contrariamente durante los días de lactancia 13 y 15 las hembras Cap mostraron latencias más cortas para mostrar la postura que les permite permanecer echada sobre las crías de su camada.

- Después del acarreo de sus crías, las madres adultas tratadas neonatalmente con Capsaicina, mostraron menores frecuencias en el registro de la postura que les permite estar echadas sobre sus crías (días 5 y 9 de la lactancia). Inversamente a esta tendencia para el día 17 de la lactancia encontramos la elevación de las frecuencias de esta postura en el grupo de madres Cap.

- Después del acarreo de sus crías, las madres adultas tratadas neonatalmente con Capsaicina, mostraron alternativamente, disminuciones (días 7 y 11 postparto) e incrementos

(días 15, 17 y 19 de la lactancia) en el tiempo total que permanecieron echadas sobre sus crías.

- Después de acarreo de sus crías, las madres adultas tratadas neonatalmente con Capsaicina mostraron aumentos en las frecuencias de la conducta de autoaseo (días 5, 9 de la lactancia).

- Después del acarreo de sus crías, las madres adultas tratadas neonatalmente con Capsaicina, mostraron aumentos significativos en la exploración horizontal para los días de la lactancia 11, 13, 15 y 21.

- Después del acarreo de sus crías, las madres adultas tratadas neonatalmente con Capsaicina, mostraron disminuciones significativas de la conducta de exploración vertical, particularmente durante el segundo medio de la lactancia (días 15- 21 postparto).

- Después del acarreo de sus crías, las madres adultas tratadas neonatalmente con Capsaicina, mostraron a lo largo de la lactancia aumentos significativos en la conducta exploratoria de husmeo (días 5, 7, 9, 11, 15 y 21 de la lactancia).

- Después del acarreo de sus crías, las madres adultas tratadas neonatalmente con Capsaicina, mostraron, particularmente durante el primer medio de la lactancia (días 5, 7, 9 y 11 postparto) aumentos significativos en las frecuencias de rascado.

CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS

Experimento I. Hembras DxP vs grupo control

Durante la lactancia de la rata de la cepa Wistar la desnutrición neonatal, asociada a la privación del cuidado materno, contribuyen al retardo para mostrar la conducta maternal de acarreo, a la reducción del número de crías acarreadas y la frecuencia para echarse sobre ellas, durante la sensibilización maternal de hembras vírgenes adultas desnutridas neonatalmente. Los mecanismos conductuales y neurales subyacentes a esta conducta maternal errática tendrán que explicarse en razón de las alteraciones a largo plazo, provocadas tanto por la desnutrición neonatal como por la privación del cuidado materno durante la lactancia. A nivel conductual, el aumento de las conductas motoras de exploración del medio, como la exploración horizontal y la exploración vertical, producen sin duda reducciones en la atención de las crías durante la sensibilización. En efecto, la mayor atención hacia estímulos ambientales particulares como el alimento, producen igualmente una reducción importante en la atención de las crías. Por otro lado, el exagerado aumento de emotividad de las hembras adultas desnutridas neonatalmente, expresado a través de incrementos del autoaseo y el aumento parcial de la conducta de enterramiento de las crías, permite establecer que en estas hembras la sensibilización maternal opera de una manera muy diferente a lo establecido para una hembra adulta nutrida y cuidada normalmente por su madre. Por último, el estudio de las bases neurales de la conducta maternal errática, expresada durante la vida adulta como consecuencia de la desnutrición neonatal y la privación de cuidados maternos, necesitará del análisis particular de las estructuras que forman el circuito neural regulador de la conducta maternal en la rata hembra y que podrían resultar dañadas en su neuroanatomía y/o fisiología por el tipo de manipulación utilizada en este experimento.

Experimento 2. Hembras DxL vs grupo control

Durante la lactancia de la rata de la cepa Wistar la desnutrición neonatal, sin privación de cuidados maternos, contribuyen al retardo para mostrar la conducta maternal de acarreo, a la reducción del número de crías acarreadas y la frecuencia para echarse sobre ellas, durante la sensibilización maternal de hembras vírgenes adultas desnutridas neonatalmente. Los mecanismos conductuales y neurales subyacentes a esta conducta maternal errática tendrán que explicarse en razón de las alteraciones a largo plazo, provocadas por la desnutrición neonatal y si a caso, por los resultantes de la crianza parcial de camadas por parte de madres sustitutas. A nivel conductual, este tipo de desnutrición provocó aumentos parciales sólo de la conducta motora de exploración vertical, lo que disminuyó la atención dada a las crías. En efecto, nuevamente la mayor atención hacia estímulos ambientales particulares como el alimento, produjeron reducciones importantes en la atención de las crías, como lo indicaría la reducción en las frecuencias del aseo de las crías. Por otro lado, el exagerado aumento de emotividad de las hembras adultas desnutridas neonatalmente, expresado a través de incrementos del autoaseo y el aumento parcial de la conducta de enterramiento de las crías, permite establecer que en éstas hembras la sensibilización maternal opera de una manera muy diferente a lo establecido para una hembra adulta nutrida normalmente por su madre. Por último, el estudio de las bases neurales de la conducta maternal errática, expresada durante la vida adulta como consecuencia de la desnutrición neonatal, necesitará del análisis particular de las estructuras que forman el circuito neural regulador de la conducta maternal en la rata hembra y que podrían resultar dañadas en su neuroanatomía y/o fisiología por el tipo de manipulación utilizada en este experimento.

Hembras DxP vs Hembras DxL

Las alteraciones en la conducta maternal expresada durante la sensibilización maternal de hembras adultas sometidas a desnutrición neonatal se observaron muy similares, si durante la lactancia la privación de nutrimentos se acompaña (DxP) o no (DxL) del cuidado maternal de las crías. Si la desnutrición es DxP se observarán sólo mayores aumentos en las latencias para iniciar el acarreo de las crías. El número de crías acarreadas, la proporción del acarreo y el tiempo de permanencia de las hembras adultas echadas sobre las crías no tendrá variaciones significativas. Lo anterior será observado junto con aumentos parciales del aseo, husmeo y manipulación de las crías en el grupo DxP. Por su parte, la desnutrición DxL producirá aumentos parciales de la conducta de enterramiento. La conducta de exploración registrada durante la sensibilización entre hembras adultas desnutridas DxP y DxL será también muy similar. Observándose sólo aumentos parciales de la exploración horizontal en el grupo DxP y de exploración vertical en el grupo DxL. Los cambios más significativos en la conducta exploratoria se observaron por el incremento del husmeo en el grupo DxL. Es claro entonces que ambos procedimientos de desnutrición produjeron durante la sensibilización maternal alteraciones muy similares en la conducta maternal, en la relación hembras-crías y en la conducta exploratoria de las hembras. Por ello pensamos que la alteraciones conductuales y neurales provocadas por la sólo desnutrición son las que más predominantemente se expresan, contribuyen significativamente a la expresión errática de la conducta maternal inducida por la sensibilización maternal de hembras vírgenes neonatalmente desnutridas. No descartamos la posibilidad de que la separación de las crías de su madre, tanto para ser introducidas en un ambiente aislado (incubador) o para ser cuidadas por madres adoptivas (DxL), también produzca alteraciones a largo plazo, y que sean importantes para provocar alteraciones en la conducta o neurofisiología de los animales, más bien postulamos que los cambios producidos por la deficiente nutrición, durante el desarrollo postnatal temprano, se expresan con más intensidad en la vida adulta, o que al menos, serían los que se expresarían predominantemente si las hembras son sometidas a la presencia de crías de su misma especie durante la sensibilización maternal.

Por último y en razón de la temporalidad de nuestras observaciones, análisis más detallados, con los mismos datos obtenidos, tendrán que consignar, primero, si las

distribuciones de las conductas aquí reportadas están variando en relación al ciclo luz-obscuridad entre los grupos control, y de ser así, si la desnutrición modifica esta regularidad temporal. Este tipo de interpretación, que sobrepasó los objetivos centrales de este trabajo recepcional de investigación, serán importantes para conocer si durante la sensibilización ocurre una distribución diferencial de las conductas maternas o de exploración y/o alimentación en relación al ciclo luz-obscuridad y de ser cierto esto , si la deşnutrición puede desorganizar esta regularidad infradiana.

Experimento 3. Administración neonatal de capsaicina

La administración neonatal de capsaicina produce alteraciones significativas en la expresión de la conducta maternal postparto de hembras adultas. Encontramos aumentos en la exploración vertical, el rascado corporal, el husmeo del nido y la disminución en la conducta de roer cuando las hembras-cap son separadas de sus crías. De lo anterior se desprende que las hembras respondieron ante la remoción de sus crías ejecutando conductas de búsqueda, como la exploración vertical y el husmeo del nido, lo que necesariamente pudo producir disminuciones en la ejecución de otras conductas como la de roer. Sin embargo esta búsqueda no interfirió con el ya bien descrito aumento de la conducta de rascado corporal provocado por la Cap. Durante la conducta maternal de acarreo de sus crías, las hembras-Cap iniciaron el acarreo con latencias más largas a las registradas en el grupo control, sin duda estos cambios se debieron, entre otras, a las alteraciones en los sistemas sensoriales que participan en la regulación del acarreo maternal, y que incluyen desde la percepción olfatoria de las crías hasta la correcta activación de aferentes y eferentes trigeminales, todos sensibles a las acciones neurotóxicas de la cap. Registramos también, particularmente durante la primera mitad de la lactancia disminuciones significativas en la latencia, frecuencia y duración de la posición adoptada por las hembras-cap para echarse sobre sus camadas en el particular ambiente del nido. Durante el segundo medio de la lactancia esta tendencia se invirtió, registrándose latencias menores para echarse sobre sus camadas, más frecuentemente y durante más tiempo. Es sin duda la maduración del sistema termorregulador de las crías durante su desarrollo lo que modula, alrededor del día 15 de la lactancia, la permanencia de la madre con sus crías. Las alteraciones provocadas en la termopercepción, como resultado de la acción neurotóxica de la capsaicina, pudieron provocar el que las madres no percibieran adecuadamente la temperatura de sus crías a lo largo del desarrollo. Como consecuencia de ello, las madres-cap no exhibieron la reducción normal de los parámetros asociados a su permanencia en el nido, esto es, permanecieron echadas sobre sus crías. Apoyan a la alteración cutánea, si bien no necesariamente térmica, el hecho de que en las hembras-Cap el autoaseo y rascado corporal estuvieron alterados. Así, las conductas controladas parcialmente por receptores cutáneos como el autoaseo y el rascado siguieron elevadas aún en presencia de las crías. Estudios neuroanatómicos y

fisiológicos a largo plazo deberán aclarar con detalle, las posibles alteraciones provocadas por la Capsaicina en las diversas estructuras que forman el circuito neural regulador de la conducta maternal de la rata. Adicionalmente, no menos importante deberán ser los estudios que indaguen las influencias que sobre la temperatura corporal, y en general sobre el desarrollo de las crías pueden provocar las madres alteradas en su conducta maternal, después de haber sobrevivido al tratamiento neonatal con el neurotóxico Capsaicina.

X. ANEXOS

ANEXO 1.

Alteraciones conductuales y en el desarrollo físico como consecuencia del tratamiento con Capsaicina.

Capsaicina y percepción de estímulos nociceptivos

Los primeros estudios de Nagy y col., 1980, mostraron que la administración de Cap en el segundo día de vida llevaba a un aumento (66 %) en la latencia al retiro de la cola en la prueba de Tail-Flick, así como a incrementos (44 %) en la latencia al lamido de la pata en la prueba del plato caliente, resultados descritos en animales registrados a los tres meses de vida postnatal. Estas observaciones fueron más tarde confirmadas por otros grupos de investigación, que inclusive reportaron incrementos mayores en la percepción de los estímulos nociceptivos probados (Holzer y col., 1979). En todos ellos era claro que la percepción térmica era la más alterada, existiendo controversia en los resultados obtenidos por la estimulación nociceptiva asociada a la presión.

Por su parte nuestro grupo de investigación describió la percepción dolorosa táctil mientras se mantenía la estimulación vaginal. Este estudio fue realizado comparando los valores en hembras de la especie humana que tenían un alto consumo de chile en sus dietas versus valores de hembras con poca o nula ingesta (Whipple, 1989). Las evaluaciones mostraron que en el grupo de alto consumo de chile, los valores de analgesia en respuesta a la autoestimulación vaginal fueron menores con respecto al control.

Los resultados se discutieron sobre la base de la demostración experimental, en roedores, que el tratamiento con Cap puede llegar a destruir fibras del tracto reproductivo de la hembra, y que éstas podían estar asociadas al fenómeno de analgesia (elevación del umbral al dolor) que se produce cuando se estimula la región vagino-cervical en hembras. Así, la ingesta de Cap pudiera llevar entonces a la destrucción o alteración funcional de las fibras cervico-vaginales asociadas a la producción de analgesia, de tal modo que las hembras del grupo de alto consumo de Cap, mostrando muy bajos niveles de analgesia, tendrían alteración y/o destrucción de las fibras vagino-cervicales asociadas a esta acción refleja (Whipple y col., 1989). Siguiendo con esta línea de investigación, Masters y Komisaruk, 1991, evaluaron las respuestas analgésicas de ratas hembras neonatalmente tratadas con Cap y sujetas a estimulación vagino-cervical.

Los resultados de la percepción dolorosa basal de estos animales, mostraron que para las ratas Cap, las latencias medidas durante los periodos pre y post pubertal, fueron mayores para las pruebas de tail-flick y en el plato caliente. Asi como incrementos en la latencia a las vocalizaciones en la prueba de electro shock aplicado en la cola. Por lo que respecta a la estimulación vagino-cervical, en todas las pruebas (mecánica, térmica o eléctrica), esta maniobra aumentó las latencias para los animales control. Sin embargo en el grupo experimental, el efecto analgésico de la estimulación vagino cervical, fue menor en todas las pruebas estudiadas.

Los resultados descritos fueron una clara prueba de que el tratamiento neonatal con Cap afectaba la neurotransmisión encargada de producir analgesia por estimulación vaginocervical en la rata. Siendo interesante el resaltar que si bien la disminución de la analgesia fue mayor para los estímulos eléctricos, también disminuyó para los estímulos térmicos o mecánicos. Asumiéndose que quizás, la analgesia producida por estimulación vaginocervical, puede estar modulada por diferentes sistemas de neurotransmisión (Masters y Komisaruk, 1991).

Recientemente Pellicer y col., 1996, publicaron una de las escasas descripciones de la percepción nociceptiva de las crías gestadas por madres que ingirieron Cap durante la preñez. En este importante estudio, se realizaron comparaciones entre crías nacidas de madres que a partir de la segunda semana de la gestación fueron inyectadas por cinco días consecutivos con Cap (0.5 mg/kg por día) vs crías de madres sujetas a la ingestión de Cap contenido en el fruto deshidratado de *Capsicum frutescens* (2.75 mg/kg por día), vs crías de madres control, inyectadas sólo con el vehículo y crías provenientes de madres gestantes manipuladas de manera similar al grupo de ingestión de extracto de chile. La percepción termnociceptiva se evaluó utilizando la placa caliente (53 ± 0.5 °C) en un tiempo no mayor de 35 segundos en crías de 25-35 días de edad.

Los resultados descritos, comparando cada grupo Cap con su respectivo grupo control, mostraron que los dos grupos Cap tuvieron incrementos en la latencia para escapar del estímulo calórico de la placa caliente. Los datos mostraron un incremento de 30.95 % a favor del grupo inyectado con Cap, y un incremento de 41.33 % a favor del grupo ingiriendo *Capsicum* versus su grupo control (Pellicer y col., 1996).

Del presente estudio se desprende la evidencia que, la administración de bajas dosis de Cap, durante la preñez de la rata puede modificar significativamente la percepción nociceptiva de sus crías un mes después del parto. Y que aún la ingesta de extractos acuosos conteniendo esta sustancia puede, atravesando la barrera feto placentaria, modificar también la neurotransmisión termnociceptiva de su descendencia (Pellicer y col., 1996)

Capsaicina y alteraciones en la regulación de la temperatura corporal

Al inicio de la década de los setenta, aparecieron diversos trabajos de investigación analizando, por vez primera, los cambios conductuales presentados por animales adultos tratados con Capsaicina.

Dada la naturaleza del efecto fisiológico descrito para el neurotóxico, los primeros modelos bajo estudio en roedores, se abocaron a describir los cambios conductuales asociados a la termorregulación y su control neural en sujetos tratados. El grupo pionero de los Jancsó reportó que en ratas y cerdos de guinea, la inyección subcutánea o intraperitoneal de Capsaicina producía hipotermia profunda, asociada a la vasodilatación de la piel (Jancsó-Gabor y col., 1970). Bajo esta condición los animales respondían con una marcada hipertermia cuando eran colocados a temperaturas ambientales de entre los 32-40 ° C que de ser mantenida por largos periodos, podía incluso llevar a la muerte de los animales. Por el contrario la capacidad de termorregulación no se veía afectada cuando los animales eran colocados en ambientes fríos. Estos efectos se asignaron al papel desensibilizante de la Cap sobre los detectores al calentamiento corporal, situados en regiones hipotalámicas o periféricas (Jancsó-Gabor y col., 1970).

Para probar esto último se mostró que la hipotermia, producida por la Cap, también se registraba si la aplicación se hacía directamente sobre el área preóptica hipotalámica anterior. Dosis subsecuentes de la droga, en esa misma área, ya no producían el mismo efecto hipotérmico, si la Cap se había aplicado previamente en el hipotálamo o vía parenteral. (Jancsó-Gabor y col., 1970). La hipertermia resultante por Cap administrada por vía parenteral también se encontró con las aplicaciones hipotalámicas.

De los resultados anteriores los autores concluyeron que la Cap evocaba, a escasos momentos de su aplicación, una respuesta termorreguladora coordinada. Tanto en la

activación de los mecanismos de disipación de calor como en la supresión misma de producción de calor; fenómenos similares a los observados por el calentamiento hipotalámico (área preóptica) (Jancsó-Gabor y col., 1970).

Hori y Tsuzuki, 1981, examinaron en detalle los efectos termorreguladores de la Cap administrada a ratas neonatas. Mostrándose que la administración intrahipotalámica o subcutánea del compuesto producía una rápida caída en la temperatura rectal, hasta casi los 4 °C. En el hipotálamo, este efecto hipotérmico se presentó sólo después de la inyección en las áreas hipotalámicas anterior y/o preóptica. Los animales adultos que habían sido tratadas con Cap durante la vida neonatal, fueron incapaces de termorregular cuando fueron colocados en temperaturas de 41 °C. La salivación también fue encontrada ausente bajo estas condiciones, sin saberse si esto era debido a una alteración aferente o eferente en la integración termorreguladora. En contraste la termorregulación efectuada bajo temperaturas de 10 °C era normal.

De lo anterior se concluyó que el tratamiento neonatal con Cap producía una estimulación inicial de termorreceptores hipotalámicos y periféricos que se continuaba con una insensibilidad a largo plazo en los mismos, tanto para la Cap como para el calentamiento.

El estudio de la alteración en la temperatura corporal, asociado a las acciones de la Cap, fue llevado al terreno de la electrofisiología; Rabe y col., 1980, registraron la actividad eléctrica evocada por estímulos acústicos y visuales registrados en el hipotálamo anterior (HA), habenua medial (AM), la sustancia nigra (SN) y el rafe dorsal (RD) después de la inyección de Cap (dos inyecciones subcutáneas de 5 mg/kg) en animales adultos de la Cepa Sprague-Dawley.

Los resultados del registro de la temperatura rectal obtenida después de las inyecciones de Cap mostraron que esta caía hasta cerca de los 4 °C, y que una segunda administración no provocaba una caída mayor. La actividad eléctrica espontánea medida en la AM se incrementó, observándose espigas ocasionales. Utilizando dosis de 10 mg/kg, este incremento fue más notable y empezó a registrarse en el HA más claramente, observándose un aumento muy ocasional de la actividad de la SN y el RD. Todas las áreas estudiadas mostraron una mayor actividad eléctrica cuando se registró kg.

Por su parte el análisis del EEG evocado por estímulos acústicos y/o auditivos, indicó que si bien hubo alteraciones en todas las áreas estudiadas, los cambios mayores se observaron para la MA y el HA (Rabe y col., 1980).

Por lo que respecta a las acciones de la Cap sobre la región cerebral hipotalámica se ha descrito que los niveles de beta endorfina se reducen permanentemente (Panerai y col., 1981).

Capsaicina y alteraciones en la conducta reproductiva

Donald Traurig y su grupo de trabajo en Austria han estudiado los efectos que tiene la administración de Cap sobre diversas funciones reproductivas en la rata. Esta perspectiva de investigación ha sido alentada al demostrarse que la Cap era una herramienta efectiva para estudiar los componentes celulares contenedores de sustancia P, población ampliamente representada en el sistema reproductivo de la rata hembra (Traurig y col., 1983, 1984; Gu y col., 1983).

Así, se demostró que en hembras adultas, tratadas neonatalmente con la Cap, si bien tenían ciclos estrales normales, se apareaban menos que su grupo control, y que como resultado de estos apareamientos con machos control, mostraban un número significativamente menor de embarazos. Observándose en estas hembras que la reacción decidual estaba disminuida.

Por su parte los machos adultos, tratados neonatalmente con Cap, producían un menor número de embarazos en hembras adultas normales (Traurig y col., 1984).

Como consecuencia de los hallazgos mostrados, los autores sugirieron que en las hembras, el aporte aferente de los reflejos neuroendócrinos, necesarios para mantener la función lútea de la preñez, normalmente iniciados a través de la estimulación del cervix durante la cópula, y mediados por la SP, se habían alterado como consecuencia del tratamiento con Cap.

En este mismo orden de ideas, Traurig, y col., 1984 estudiaron el contenido de fibras inmunoreactivas a SP en diferentes regiones del sistema reproductivo de la rata. Esta

evaluación fue realizada en hembras de 12-16 semanas de edad que habían sido tratadas en el segundo día de vida con una sola dosis de Cap (50 mg/kg). Los resultados del RIA revelaron que la Cap produjo disminuciones significativas de SP en el útero (la mayor disminución), el cervix, la vagina y el ovario (Traurig y col., 1984).

En 1988, Traurig y col., reportaron con cierto detalle las posibles alteraciones en algunos reflejos neuroendócrinos, tratando de establecer las causas de la disminución en la reacción decidual y fertilidad en hembras adultas que habían sido tratadas neonatalmente con el neurotóxico. Así, describieron que adicionalmente a la reducción documentada de SP, las concentraciones de CCK, NKA y el CGRP se encontraban reducidas en el cervix de las hembras adultas. Por el contrario la secreción ciclica de progesterona, determinada en los niveles plasmáticos en la tarde del diestro, proestro o estro, no fueron diferentes.

No obstante cuando se aplicó a estas hembras un estímulo mimético de la cópula, para inducir pseudoembarazo, 10 de 12 hembras Cap. siguieron ciclando normalmente, mostrando valores de progesterona muy bajos 9 días después de esta estimulación (Traurig y col., 1988). Cuando las ratas fueron estimuladas con progesterona para mostrar reacción de pseudopreñez más la reacción decidual, no se mostraron diferencias en la reactividad uterina entre los grupos.

De los resultados anteriores se concluyó que el tratamiento neonatal con Cap no producía alteraciones en la interacción del ovario-adenohipofisis-hipotálamo o aún en la sensibilidad del útero hacia la progesterona. Los resultados apoyaron que era específicamente una vía eferente la que se veía alterada por la Cap, lo que producía una baja responsividad del cervix, cuando se presentaban los estímulos copulatorios necesarios para producir el reflejo neuroendócrino, subyacente al mantenimiento de la preñez. Esta aseveración era la misma propuesta por Nance y col., 1987, al interpretar los resultados derivados de administrar intratecalmente Cap en hembras adultas. La evaluación de otro reflejo neuroendócrino, el disparado por la succión en los pezones de la madre y que mantiene la lactancia, también ha sido analizado en hembras adultas durante el postparto y sometidas a tratamiento neonatal con Cap. En principio el análisis inmunohistoquímico del tejido de los pezones de la rata reveló que en las hembras tratadas neonatalmente con Cap

(50 mg/kg), se presentó una marcada reducción en el número de fibras contenedoras de SP. En las hembras tratadas con Cap, se obtuvieron camadas de tamaño normal, y con pesos similares a los descritos para madres control. Sin embargo, las crías alimentadas por madres-Cap crecieron con valores de peso menores que sus controles, siendo estas diferencias más aparentes desde el día 5 postparto. Aún más, la cantidad de leche secretada por las madres Cap, en el día 12 de la lactancia, fue menor que la producida por sus camadas control (Traurig y col., 1984).

De lo anterior los autores concluyeron que, al igual que en los reflejos de la cópula necesarios para mantener la preñez, la destrucción neonatal de las fibras contenedoras de SP como consecuencia de la administración de Capsaicina, alteraron el curso normal de la manutención de la lactancia, inicialmente disparada por la succión de las crías (Traurig y col., 1984).

Capsaicina y sus efectos en la función gustativa y odorífera.

Diversos reportes de investigación han mostrado, que el control neural de las funciones olfativas y gustativas, esta mediada por la participación de nervios que contienen una gran población de fibras amielínicas (C) y mielínicas delgadas (A δ). el blanco de la acción neurotóxica de la Cap. Aún más, particularmente en las poblaciones neurales amielínicas se ha encontrado una cantidad importante del péptido sustancia P, cuyos niveles se ven claramente disminuidos después de la aplicación del neurotóxico. Estos antecedentes bioquímicos y anatómicos llevaron al estudio de las posibles acciones que la Cap podría tener sobre las funciones de nervios, como el trigémino y el glosofaríngeo, participantes en la integración neural de las funciones olfativa y gustativa, respectivamente (Lundblad y col., 1983). En efecto se demostró que después de la administración de Cap existía una disminución de SP en los nervios citados, así como en las cavidades oral y nasal (Nagy y col., 1982).

A nivel funcional Silver y col., 1985, registrando la actividad eléctrica del nervio etmoide, examinaron el posible efecto de la administración de Cap en animales adultos. Los registros en esta rama del nervio trigémino, mostraron que en los animales tratados, una reducción en la respuesta provocada por estímulos olorosos (ciclohexano y acetato de

amilo). Por el contrario respuestas de rápida adaptación en estos animales si se registraron al estimularlos con el olor de ácido propiónico, si bien la concentración necesaria para provocar esta respuesta tuvo que ser aumentada 300 veces con respecto al control. La selectividad del efecto sobre la respuestas olorosas, fue realizada por el hecho de que la actividad nerviosa, registrada para estímulos táctiles, en animales Cap, fue igual a la registrada en el grupo control (Silver y col., 1985).

En este mismo estudio se describió la conducta expresada en animales tratados con Cap cuando eran colocados en la búsqueda de un estímulo oloroso enterrado, así como su capacidad de aprendizaje por aversión a olores. Los resultados mostraron que no existieron diferencias en la ejecución de animales control o experimentales. Por lo que se concluyó que el tratamiento con Cap no producía alteraciones en la percepción olfativa.

Aún más, cuando se analizó la capacidad de discriminación gustativa en estos animales, se encontró que tampoco hubo claras diferencias entre el grupo Cap y sus control. Así entonces quedaba establecido que, al menos en animales adultos sometidos a la Cap, sólo la función olorosa, asociada a la percepción de irritantes, esto es la mediada preferentemente por el nervio trigémino, era la alterada por la Cap, no así la percepción gustativa, ni la percepción olorosa asociada a estímulos no irritantes.

La hipótesis de que algunas deficiencias autonómicas y conductuales descritas para ratas tratadas con Cap, y registradas bajo situaciones ambientales de calor, frío o estimulación nociceptiva, podían estar relacionadas a la alteración de su habilidad para reaccionar a estímulos que producen estrés, llevo a que Cormareche, y col., 1989, midieran en una prueba de campo abierto, bajo estimulación odorífera estresante, la responsividad conductual de ratas adultas, antes y después de ser tratadas con capsaicina. Los diversos resultados de este interesante estudio, mostraron que las ratas que mostraron una respuesta emocional alta en el campo abierto, en principio no asociada a olores estresantes, fueron las que sobrevivieron al tratamiento con Cap (dosis acumulada= 130 mg/kg). Sin embargo en este grupo, la reactividad hacia un estímulo odorífero estresante (heces de zorro) no se incremento en el campo abierto, por lo contrario se observó un decremento en el índice de emocionalidad obtenido. Por lo que respecta a la capacidad de percepción olfatoria, los

autores concluyeron que no estaba alterada en los animales Cap. Esto último fue observado comparando el comportamiento de los animales Cap y su control al ser expuestos a olores de hembras o comida en un laberinto en T (Cormareche y col., 1989).

Es importante señalar que los autores no descartaron la posibilidad de que la baja de responsividad de los animales Cap, hacia los olores estresantes se pudieran deber a las alteraciones en la función olfatoria trigeminal y que ha sido ampliamente documentada. (Cormareche y col., 1989).

Por su parte el grupo de Pérez, 1991, analizó las influencias de la administración neonatal de Cap sobre la neurotransmisión olfativa en el largo plazo. Describieron, en animales de 30 días de edad, las propiedades funcionales del nervio olfatorio, determinando los umbrales de excitabilidad de las fibras nerviosas por medio de potenciales ortodróxicos de campo provocados en el bulbo olfatorio principal, analizó también el patrón del componente de baja frecuencia del electroencefalograma bulbar.

Los resultados mostraron que en los animales Cap, la excitabilidad del nervio olfatorio disminuyó, registrándose valores de cronaxia muy altos con respecto al control. En la misma tendencia, la intensidad de la corriente media requerida para evocar las respuestas umbral desde el bulbo olfatorio fueron significativamente altas. Los registros del EEG bulbar en ratas Cap, mostraron una clara disminución en la amplitud y una muy ligera, pero evidente en la frecuencia. Adicionalmente, los pesos registrados para los animales de 30 días, tanto de bulbo olfatorio como del cerebro fueron menores en el grupo experimental (Pérez y col., 1991).

Teniendo como referencia los hallazgos anteriormente descritos los autores concluyeron que la posible destrucción de las fibras en el nervio olfatorio y sensibles al tratamiento con Cap, había producido la disminución de la actividad del EEG bulbar (Pérez y col., 1991).

Para analizar con más detalle la eliminación de fibras sensibles a Cap, por la administración neonatal, y la respuesta a los irritantes nasales, Silver y col., 1991, analizaron la respuesta del nervio etmoide ante la estimulación proveída con acetato de amilo, ciclohexano y ácido propiónico. Adicionalmente fue descrita la inmunocitoquímica a SP y

CGRP, en el epitelio nasal, el epitelio olfatorio y el órgano vomeronasal. Todas las mediciones las realizaron en animales de 40 días de vida que habían sido tratados en el segundo día de vida con Cap (50 mg/kg).

Los resultados mostraron que, ante el estímulo oloroso de los compuestos citados, en 90 % de los animales Cap no se obtuvieron respuestas eléctricas del etmoide, aún y cuando las concentraciones presentadas a los animales experimentales se incrementaron considerablemente (Silver y col., 1991).

Por lo que respecta al estudio de inmunocitoquímica, en los animales donde no se había registrado actividad eléctrica, tampoco se visualizaron en el epitelio nasal fibras contenedoras de SP o CGRP, claramente presentes en los individuos control. De lo anterior se concluyó que la destrucción de las fibras destruidas, contenedoras de SP y CGRP, fue lo que produjo la ausencia de respuesta olfativa en los animales tratados neonatalmente con Cap. Así entonces se confirmó que los quimiorreceptores trigeminales del órgano nasal son nociceptores que contienen SP (Silver y col., 1991).

Basándose en la evidencia anatómica de que la composición de los nervios gustativos incluye fibras de diámetro pequeño, tanto mielínicas como amielínicas, Ganchrow y col., 1992, analizaron el efecto de la administración neonatal de Cap sobre la conducta gustativa de la rata albina de la cepa Sabra. Los estímulos de agrio, dulce, salado y picante a diferentes concentraciones, fueron evaluados después del día postnatal 290. Esto es casi un año después del tratamiento. Adicionalmente a la evaluación sensorial gustativa, los animales fueron evaluados en su percepción dolorosa, en sitios extraorales que incluyeron la oreja, la nariz, las patas delanteras, las traseras y la cola.

Los resultados de la evaluación nociceptiva mostraron que la administración de Cap produjo un incremento del 40 % en las latencias de respuesta para los animales experimentales. Adicionalmente, los animales tratados neonatalmente con el neurotóxico, consumieron agua en solución acuosa, de manera similar a los valores de consumo de agua normal, mientras que los animales control consumieron apenas la mitad de la solución

conteniendo Cap. En este particular parámetro no se encontraron, en el grupo experimental, diferencias asociadas al sexo.

Por otro lado, el consumo de soluciones conteniendo cloruro de sodio, disminuyó en los animales tratados con Cap. Contrariamente al de las soluciones dulces de sucrosa o de quinina que no mostraron diferencias entre control y experimentales.

Los autores del estudio concluyeron que la administración neonatal de Cap podía inducir alteraciones gustativas, al provocar cambios permanentes en los sistemas de neurotransmisión peptídica gustativa mediada por fibras sensibles a Capsaicina, o alteración en la transferencia de información hacia núcleos centrales durante periodos críticos en el desarrollo de la papilas gustativas y/o cambios en el fluido sistémico de mecanismos regulatorios de Na^+ (Ganchrow y col., 1991).

Capsaicina y sus efectos en la conducta agresiva.

Llevados por el hecho de que la administración de Cap en animales adultos no ha sido detalladamente estudiada a nivel conductual, Alleva y col., 1991, estudiaron la conducta agresiva en ratones adultos de la cepa albina Swiss CD-1, 48 horas después de la administración (7.5 mg/kg) de Cap. Adicionalmente a este parámetro conductual, midieron la latencia para responder a un estímulo calórico nociceptivo, aplicado durante la prueba de plato caliente.

Los resultados mostraron que la latencia al primer ataque se redujo considerablemente en los animales Cap. La frecuencia y duración de los ataques se incrementó en este mismo grupo experimental. Esta tendencia hacia una mayor agresividad fue reforzada al encontrarse que, en los animales Cap, disminuyeron las frecuencias y duración de posturas sumisivas. La conducta de congelamiento, también defensiva fue menor en el grupo Cap. Por lo que respecta a la prueba de plato caliente, en ningún caso hubo diferencia entre los grupos control y experimental.

Los resultados fueron interpretados por los autores de la siguiente manera: como consecuencia del tratamiento con Cap, la agresividad intraespecífica aumentada en los ratones, fue provocada por los cambios ocasionados por la Cap en mecanismos reguladores de la conducta agresiva. Aún mas, los autores adujeron, que esta alteración conductual

podía deberse al daño que la Cap puede ocasionar sobre estructuras hipotalámicas, participantes en la regulación de la conducta agresiva (Alleva y col., 1991).

En un estudio similar al anterior pero realizado en ratones (*Mus musculus*) Sabrina y col., 1993, midieron la conducta agresiva en relación a los niveles hipotalámicos de SP, en animales adultos sujetos a tratamiento neonatal con Cap. Los resultados de los análisis conductuales revelaron que en efecto, hubo un aumento en la agresividad producida por el aislamiento. Similares a los resultados del experimento precedente, los animales Cap mostraron latencias más cortas y frecuencias más altas de ataques, así como disminución en la frecuencia de las conductas defensivas.

Adicionalmente a estas mediciones en la conducta social, los autores sólo encontraron, para el grupo experimental, elevaciones en las latencias para lamerse la pata en la prueba de nocicepción termal. Por lo que respecta a la determinación de los niveles hipotalámicos de SP, se encontró que los animales Cap tenían una disminución significativa en sus contenidos hipotalámicos de SP.

Así entonces se demostraba que la administración neonatal de Cap producía alteraciones a largo plazo en la conducta agresiva. Nuevamente la interpretación de estos resultados necesita considerar los daños producidos por la Cap, tanto en la neurotransmisión mediada por las fibras sensibles a Cap, tanto a nivel periférico, como en el sistema olfatorio, o en la ya mencionada disminución en el contenido de SP hipotalámico. Particularmente reportada aquí para las regiones del núcleo ventromedial y el aspecto ventral del hipotálamo lateral (Bigi y col., 1993).

Adicionalmente, lo importante de estos hallazgos es que las acciones neonatales de la Cap sobre la conducta agresiva fueron muy similares a si hubiese sido administrada en la vida adulta (Bigi y col., 1993).

Efecto de la administración de Capsaicina sobre el aprendizaje

El hallazgo de que la participación del nervio vago es fundamental para que se lleve a cabo la consolidación de tareas aprendidas, esto es adquisición de la memoria, y de que aún este nervio esta compuesto por fibras amielínicas sensibles a Cap, llevo a Carobi y Garinei, a estudiar las habilidades de retención y aprendizaje, así como la extinción de lo aprendido en ratas adultas de la Cepa Wistar tratadas neonatalmente con Cap. Para este propósito

estudiaron el aprendizaje espacial, ejecutado en el laberinto radial o complejo, así como el aprendizaje de evitación activa de dos vías.

En razón de estudiar que tanto las probables deficiencias conductuales en la ejecución de las ratas pretratadas con Cap, estarían o no asociadas a la alteración de su habilidad para reaccionar a las situaciones que inducen estrés, su conducta en una prueba de campo abierto fue evaluada y comparada con la de sus control o con la de animales intactos.

Los resultados obtenidos mostraron que en la prueba de campo abierto no se reportaron diferencias entre ninguno de los grupos bajo estudio. Sin embargo, las ejecuciones en el laberinto complejo mostraron una disminución significativa en el número de movimientos y recompensas apetitivas (nutricubos comidos) en las ratas tratadas con Cap.

Cuando las ejecuciones de aprendizaje se compraron, fue evidente que las ratas tratadas con Cap alcanzaron el criterio de aprendizaje tardíamente, mientras que sus tiempos de reposo, desde el comienzo de la prueba hasta el aprendizaje, fueron más largos que los de los animales inyectados con el vehículo o los intactos. Cuando las ratas fueron sometidas a una prueba posterior en el laberinto complejo, en orden de evaluar la habilidad para recordar la conducta apetitiva condicionada y su extinción, ninguna diferencia fue observada entre los grupos. En el laberinto radial de 8 brazos ninguna diferencia fue observada entre los grupos. El número de decisiones correctas, antes del primer error, fue mayor en el grupo Cap, mientras que el número de errores fue menor. Por lo que respecta a la prueba de evitación activa no hubo diferencias significativas entre los grupos. Por su parte en la prueba del plato caliente tampoco se observaron diferencias entre los grupos estudiados (Carobi y col., 1995).

De acuerdo a los resultados descritos, quedó claro para los autores que la administración de Cap produce alteraciones en el condicionamiento apetitivo en un laberinto complejo, retardó en el aprendizaje asociativo, sin alteración en la retención o su extinción. Así se estimó que los efectos neonatales de Cap fueron sobre la adquisición de memoria sin interferencia sobre la retención de la misma. Tampoco se asignaron cambios en el aprendizaje espacial, lo que indica que las ratas tratadas con Cap pueden realizar mapas cognitivos adecuadamente.

Las observaciones de que las ratas Cap, al igual que el grupo tratado con el vehículo pero no los intactos, fueron más eficientes en el aprendizaje por condicionamiento aversivo, encuentran su explicación en previos reportes que han descrito este tipo de aprendizaje en ratas que han padecido estímulos nocivos o estresantes en la vida neonatal. No obstante que el incremento en la capacidad de aprendizaje parece ser independiente del aumento en la sensibilidad dolorosa, dado que en la prueba del plato caliente no hubo diferencias entre los grupos (Carobi y Garinei, 1995).

ANEXO 2

Bases hormonales y neurales de la Conducta Maternal.

Hormonas de la Gestación, Parto y Lactancia.

Las hormonas de la gestación, estrógenos, progesterona y prolactina, son los principales candidatos para la estimulación de la conducta maternal. El patrón de niveles circulantes de estas hormonas es muy similar en casi todos los mamíferos que han sido estudiados, con el hámster y el mono como excepciones notables (Rosenblatt y col., 1981).

Para una amplia variedad de especies, existen evidencias de que la terminación de la preñez está asociada a decrementos en la proporción progesterona-estrógeno. En la rata, los niveles periféricos de progesterona son altos durante la preñez, declinando a partir del día 19 de la gestación. (Macdonald y Matt, 1984; Peppe y Rotchild, 1972; Sanyal, 1978). Por su parte los niveles de estradiol, medidos en la sangre de la vena ovárica, están generalmente por debajo de los 200 pg/ml hasta el día 16 de la gestación, día a partir del cual comienzan a elevarse alcanzando los 630 pg/ml en el día 22 de la gestación (Shaikh, 1971)

Aparte de estas dos hormonas, otras que se presentan alrededor del momento del parto y durante la lactancia también se han asociado al control de la CM, por ejemplo las hormonas lactogénicas, prolactina y los lactógenos placentarios, con importantes funciones luteotróficas. La prolactina, durante la primera mitad de la gestación en la rata, se libera diariamente a través de dos picos. Generalmente, durante la segunda mitad la prolactina permanece baja en la sangre, ocurriendo una liberación pulsátil importante en los dos últimos días de la preñez (Linkie, 1972; Morishige y col., 1973). Los lactógenos placentarios, al tiempo que la prolactina baja, comienzan a incrementarse (Tonkowicz y Voogt, 1983; Voogt y col., 1982).

Por otra parte, tenemos la oxitocina, asociada a la aparición de las contracciones uterinas que ayudan a la expulsión del feto. Sintetizada por células neurosecretorias hipotalámicas se libera hacia la circulación general por la neurohipófisis (Swanson y col., 1983). La oxitocina se incrementa en el plasma periférico alrededor del momento del parto. Se han asociado diferentes estímulos como causantes del incremento de oxitocina: decremento de la proporción plasmática de progesterona/ incremento de estrógenos, distensión vaginal, cervical y/o uterina (Amico y col., 1985; Roberts y Share, 1969).

Otras hormonas importantes para el control de la terminación de la gestación y el inicio del parto en la rata y muchos otros mamíferos son las prostaglandinas. La principal, en este contexto, parece ser la prostaglandina F_2 (PGF_2) que produce contracciones uterinas actuando sobre el miometrio. Asociada a la regulación de las contracciones del miometrio y a la distensibilidad del cervix tenemos a la relaxina. Presente en concentraciones elevadas en los dos últimos días de la gestación (Numan, 1994).

Por último, varios reportes han mostrado que los niveles de β -endorfina se elevan en el plasma periférico durante la gestación y en particular durante el parto de la rata. Se sugiere que actúan modulando la percepción dolorosa durante el trabajo de parto y que intervienen en la regulación de la CM (Numan, 1988; Numan 1994; Rosenblatt, 1990). En la rata, Terkel y Rosenblatt, 1968, 1972, reportaron que la transfusión de sangre de una hembra parturienta a una hembra virgen facilitaba la expresión de la CM en esta última. Así se mostraba que alguna sustancia (s) presente en la sangre de una parturienta facilita la responsividad para ejecutar CM.

A partir de este hallazgo fundamental diversos grupos de investigación se han abocado a buscar esas sustancias. En general se ha descrito que las estrategias de investigación de estos grupos se pueden dividir en dos: la que han utilizado el modelo de sensibilización de hembras vírgenes, y que han administrado diversos regímenes hormonales en la búsqueda de la facilitación de la sensibilización; y los grupos que han utilizado la terminación prematura de la gestación, asumiendo que las ratas en la mitad de su gestación no son responsivas a las crías y que las parturientas sí (Numan, 1994).

Estudios de terminación prematura de la gestación. Rosenblatt y Siegel, 1975, han descrito que la terminación de la preñez por histerectomía facilita la responsividad maternal en ratas de gestación media y tardía. Los autores han sugerido que esta facilitación se debe a la declinación de los niveles plasmáticos de progesterona junto con la elevación del estradiol provocados por la remoción del complejo luteotropina/lactógenos. Para probar estas ideas, experimentos posteriores de Siegel y Rosenblatt, mostraron que en efecto la caída de progesterona y la subida de estradiol promueven la CM en la rata. Bridges y col., confirmaron estos hallazgos y adicionalmente reportaron que la sola caída en la progesterona sin la elevación de estradiol podía también facilitar, si bien en menor grado, la aparición de la

conducta maternal. Toda vez que fueron animales gestantes los utilizados, los estudios anteriores no deben descartar otros factores hormonales adicionales a la progesterona y el estradiol (Numan, 1994).

Inducción hormonal de CM durante la sensibilización de hembras vírgenes.

Tomando en consideración los estudios iniciales de Riddle y col., 1942, citado por Numan, 1988, que sugirieron que la prolactina era importante para la CM, estudios más recientes demostraron que la sola administración de la prolactina no era suficiente para producir la aparición de la CM en hembras vírgenes. Sin embargo, al ser administrada junto con el estradiol y la progesterona, de una manera secuencial determinada, sí producía la facilitación de la CM (Numan, 1994).

Otros estudios de Siegel y Rosenblatt, (1975a, 1975b) y Siegel y col., 1978, han mostrado que bajo ciertas condiciones la sola administración de estradiol puede inducir CM de latencia corta en hembras vírgenes. Adicionalmente, Doerr y col., 1981 confirmaron que la administración de 5 ug/kg de benzoato de estradiol podía estimular la CM de hembras vírgenes histerectomizadas y ovariectomizadas, siempre y cuando las hembras fueran pretratadas con progesterona.

De acuerdo a Rosenblatt, dos importantes conceptos han surgido en esta área de estudio: "sensibilización" (priming) y "disparador" (triggering) hormonal de la conducta maternal. La sensibilización hormonal se refiere a los efectos hormonales que por sí mismos no provocan la conducta maternal. Las hembras preñadas son sensibilizadas por las hormonas de la preñez para responder al pico terminal de estrógenos (y quizás a otras hormonas) iniciando la conducta maternal. Estos dos efectos son también descritos cuando hembras de 16 días de gestación son histerectomizadas: la terminación de la preñez resulta en un incremento de estrógenos los cuales junto con el previo "priming", estimulan la conducta maternal. Si los ovarios de las hembras son removidos al tiempo de histerectomía, ella solamente es sensibilizada y por lo tanto no muestra una conducta maternal de latencia corta; una sola dosis disparadora de estrógenos causa la aparición rápida de la conducta maternal (Rosenblatt, 1990).

Los estrógenos inyectados en hembras no preñadas, que han sido ovariectomizadas e histerectomizadas, también estimulan la conducta maternal. Sin embargo se requieren dosis

altas de estrógenos (al menos cinco veces más) y las latencias son más largas en las histerectomizadas y ovariectomizadas.

Tratamientos prolongados con estrógenos y progesterona, combinados con prolactina endógena, la cual estimula a las hormonas de la gestación puede también sensibilizar a las hembras para responder a la aparición del estímulo del estrógeno; sin embargo, la conducta maternal se bloqueará si los niveles de progesterona permanecen altos (Bridges y col., 1978).

Los efectos conductuales de la sensibilización en hembras con estrógenos y progesterona, o de 16 días de gestación seguidos por el disparo de los estrógenos, son independientes de la captura de estrógenos en el APOM del cerebro (Giorano., 1987, Giorano y col., en prensa, citados por Rosenblatt, 1990). La recaptura de estrógenos se mide por la concentración de receptores estrogénicos en el citosol y en el núcleo, después de 48 hr de que se aplicó la inyección de la hormona a hembras hormonalmente sensibilizadas. Las hembras sensibilizadas tienen una alta concentración inicial de receptores nucleares a estrógenos. Las hembras no sensibilizadas tienen el patrón opuesto de receptores. En hembras sensibilizadas el "triggering" se correlaciona con el incremento de receptores nucleares a estrógenos en un periodo de 12-24 horas después de la estimulación con estrógenos (Rosenblatt, 1990).

El incremento gradual de la responsividad de la conducta maternal en ratas durante la preñez, quizás sea la expresión del priming continuo por los estrógenos ováricos y la progesterona, o posiblemente por el lactógeno placentario durante la preñez (Bridges y col., 1984). El pico terminal de la secreción de estrógenos por los ovarios quizá funcione como el estímulo disparador, causando una aparición preparto de la conducta maternal cuando las crías están ya presentes; ésto quizás sea la base para la aparición normal postparto de la conducta maternal. Bloqueando la acción disparadora de los estrógenos en el APMH, con implantes cerebrales de un antiestrógeno (4-hydroxitamoxifen) comenzando en el día 20 de la preñez, previene la aparición preparto de la conducta maternal.

Adicionalmente, si las hembras pasan por la cesárea, y por lo tanto previniéndolas de tener contactos con la cría durante el parto, ésto bloquea la aparición de la conducta maternal "postparto" en una proporción significativa de hembras (Ahdieh y col., 1987)

El concepto de dos fases en la estimulación hormonal de la conducta maternal en la rata estuvo presente sólo en algunos de los estudios tempranos, donde se usaron prolongados tratamientos con estrógenos y progesterona y a continuación prolactina para estimular la conducta maternal en hembras ovariectomizadas y propusieron que las hormonas ováricas, en particular el retiro de la progesterona sensibiliza a la hembra para responder a inyecciones de prolactina.

La estimulación que contribuye a la aparición de la conducta maternal quizá, sean las contracciones uterinas en periodo inmediato al parto y durante el mismo. La correlación entre la aparición de la conducta maternal aproximadamente 3.5 horas antes del parto y el comienzo de las contracciones uterinas vigorosas han sido fácilmente observadas, se podría adicionar que dañando al nervio pélvico que lleva la estimulación aferente, proveniente del interior del útero hacia el sistema nervioso central, demora la aparición de la conducta maternal (Myer y Rosenblatt, observaciones no publicadas, citadas por Rosenblatt, 1990).

Adicionalmente, las hembras no preñadas, ovariectomizadas y tratadas con estrógenos, muestran una aparición rápida de conducta maternal (menos de tres horas) cuando la estimulación es vagino-cervical, aunque ellas hallan mostrado previamente conducta maternal mientras tuvieran una camada. Más aún, la distensión uterina (por inyección de solución salina dentro del útero) de hembras pseudopreñadas con o sin deciduoma (células secretadoras de progesterona que prolongan la pseudopreñez del día 12 al 22) acortan las latencias para la conducta maternal a menos de dos días comparados con los cinco-seis días sin distensión uterina (Garber y col., 1977).

Otra fuente de estimulación que contribuye al inicio de la conducta maternal en la rata quizá sea la estimulación táctil de la boca durante el parto (Stern y col., 1987). Hembras no preñadas, ante una sola cría invariablemente la huelen y hacen contacto bucal con ellas. Las hembras parturientas huelen y contactan a las crías, y generalmente las toman con su boca y acarrear hacia el nido. Las diferencias en sus respuestas cuando hacen contacto bucal con las crías, quizá esta basada en el incremento en la sensibilidad táctil de la región facial y en el alargamiento de los campos receptivos inducidos en hembras durante la preñez por exposición prolongada a los estrógenos (Berietter y col., 1975; 1980). Eliminando la sensibilidad de la boca por lesión del nervio infraorbital se interrumpe severamente con

todos los aspectos de la conducta de parto. El contacto con la nariz durante el parto es quizá la conducta más universal entre todos los mamíferos; la importancia en estimular la aparición de la conducta maternal ha sido sólo recientemente reconocida e investigada.

Regulación de la CM durante el periodo postparto

Una característica central en la ejecución de la conducta maternal es su gradual declinación conforme el infante avanza en su edad. Las descripciones temporales de la interacción madre-infante, descritas en varias especies, han mostrado que en la rata de laboratorio, el acarreo, la construcción del nido y la postura de amamantamiento se ejecutan con altos niveles en los primeros 10 días postparto y declinan hasta que cesan alrededor del destete (Numan, 1994).

En la búsqueda de los factores que regulan la declinación en la responsividad maternal durante el periodo postparto dos posibilidades han surgido: a) la responsividad maternal es alta en el parto y declina con el tiempo, independientemente de la estimulación de la cría; b) la responsividad maternal postparto está influenciada por la estimulación proveniente de la cría. Conforme la cría crece, deja de ofrecer estímulos atractivos para la CM. Al parecer los datos disponibles tienden a apoyar la segunda posibilidad (Numan, 1988).

El primer punto es que si una hembra, es separada de su camada, en los momentos cercanos al parto, tiene una reducción importante en su responsividad maternal posterior. En la rata si las crías son separadas de su madre y se le presentan a ella 4 días más tarde crías estándar, se describe una reducción substancial en la CM. Si por el contrario, la separación se realiza 3 días después de que la madre cuidó a sus crías, la responsividad maternal no se afecta. Esto sugiere que los eventos fisiológicos asociados al parto en conjunción con la estimulación de las crías, o la ejecución de la CM durante el postparto temprano son factores importantes para establecer la responsividad maternal (Numan, 1994).

Por otra parte, los estudios sustituyendo a crías de edad avanzada con crías de corta edad, han mostrado que la responsividad maternal elevada puede prolongarse en la rata y aún en otras especies. De lo anterior se ha establecido que los niveles elevados de la CM durante el periodo postparto son provocados por los jóvenes infantes, mientras que los

infantes de edad avanzada, son menos capaces de mantener los altos niveles de responsividad maternal (CM) (Rosenblatt y Lherman, 1963, citados por Numan, 1988).

Desde otra interesante perspectiva se ha estudiado, tanto el tiempo total como el número de veces que la madre se echa sobre sus crías en el ambiente del nido. Durante las dos primeras semanas postparto, si bien la frecuencia de permanecer echada no cambia, el tiempo total de estar en el nido disminuye, esto es porque la duración total de cada postura de echada disminuye (Grotta y Ader, 1969; Leon y col., 1978). El trabajo de Leon y col., ha mostrado que los factores asociados a la temperatura juegan un papel en la regulación de la distribución antes referida (Numan, 1994; Leon, 1986).

En particular, un incremento agudo en la temperatura corporal y cerebral en la madre, parece causar el que la hembra termine un periodo de permanencia en el nido echada sobre las crías. Si bien, esta termorregulación se ha visto que controla la interacción madre-cría de manera preferencial durante la segunda semana de vida postnatal. Datos más directos se han obtenido por el calentamiento intraperitoneal y el calentamiento directo del área preóptica que producen la terminación de las secuencias de estar echada sobre el nido (Woodside y col., 1980).

Los factores endócrinos parecen también regular la duración de las posturas de estar echada sobre el nido. Las temperaturas corporales de las ratas lactantes son más altas que las de hembras no lactantes (Jans y Leon, 1983; Thoman y col., 1968). La secreción diferencial de glucocorticoides de la corteza adrenal parecen causar esta elevación. La succión por parte de las crías estimula la liberación de ACTH en la hipófisis, esto a su vez incrementa la secreción de glucocorticoides (Stern y col., 1973). Por su parte, Leon y col., 1978, han sugerido que este incremento en los niveles de glucocorticoides durante la lactancia produce un hipermetabolismo, y el asociado incremento en la producción de calor produce un incremento crónico en la temperatura corporal. De hecho este grupo ha demostrado que la remoción de la glándula adrenal (pero no la médula) baja la temperatura corporal de las ratas lactantes.

Que la elevación crónica de la temperatura corporal en hembras lactantes causada por glucocorticoides, está regulando las secuencias de la ejecución de la conducta de echarse sobre las crías, lo indica el hallazgo de que las hembras adrenalectomizadas no muestran el

típico decremento en el tiempo de echada en el nido durante la segunda semana postparto. Adicionalmente, Woodside y Leon, mostraron que la administración de glucocorticoides (cortisol o corticosterona) en hembras adrenalectomizadas revierte el efecto de la adrenalectomía sobre la temperatura corporal y sobre el tiempo de permanencia de la hembra echada sobre el nido (Numan, 1988).

Ahora bien, ¿cómo se puede explicar la disminución de la permanencia en la conducta de estar echada sobre el nido y las crías conforme avanza la lactancia? La respuesta parece estar a nivel de la cambiante capacidad termoregulatoria de la cría. Conforme la cría avanza en edad, su habilidad termorreguladora se desarrolla, lo cual incluye la habilidad para retener calor. Así, cuando una madre permanece echada sobre crías de edad avanzada, serán más rápidamente calentadas que las crías más jóvenes. Otros factores como el hambre de la madre pueden promover la terminación en la postura de echada sobre las crías (Numan, 1988; 1994).

Control de la Conducta Maternal.

Participación de aferencias sensoriales.

Fueron inicialmente Beach y Jaynes (1956), quienes proclamaron la idea de que la conducta maternal de acarreo estaba controlada a nivel multisensorial. Esto es, proponían que si bien toda la actividad sensorial (visual, auditiva, táctil, etc.) era importante, ninguna en particular parecía ser esencial para la ejecución del acarreo después del parto. Esto lo dedujeron al encontrar que la remoción quirúrgica de la visión, olfacción o la disminución en la sensibilidad táctil de la nariz y la región perioral, alteraba muy poco la ejecución del acarreo.

Más tarde, Benuck y Rowe (1979) demostraron que la anosmia o la ceguera no eliminaba la conducta maternal. Por su parte, Herrenkhol y Rosenberg (1972), demostraron que la remoción quirúrgica de la entrada auditiva dejaba intacta las respuestas maternas dirigidas hacia las crías.

No obstante lo anterior, ya entrada la década de los ochenta Kenyon, Cronin & Keeble, (1981) demostraron que la entrada táctil desde la región perioral para la ejecución del acarreo en la rata, era más importante que lo que el trabajo de Beach y Jaynes habían sugerido. Así mostraron como la inyección local de anestésico dentro de la vibrisa (lo que

produjo la desensibilización de la región de la nariz) o la sección de la rama infraorbital del nervio trigémino (la cual bloqueó la entrada desde el labio superior y la nariz) interfería con las respuestas de acarreo de hembras postparto. Las hembras se acercaban a las crías dispersas, las olian pero no las acarreaban. Adicionalmente observaron que no obstante la continua desensibilización táctil del labio superior y la nariz, el acarreo se normalizaba gradualmente. El mecanismo de esta recuperación no fue estudiado. Quizás una completa desensibilización de la región perioral que incluya la región mandibular (quijada inferior y labio superior) resultaría en un déficit mayor y a largo plazo.

En 1987, Stern y Kolunie, no sólo confirmaron lo anterior, sino además reportaron que en la rata la desensibilización olfativa y táctil de la nariz elimina la agresión maternal hacia los intrusos. Estos resultados sobre el acarreo y la agresión maternal y la participación de la entrada táctil desde la región perioral maternal, son importantes porque sugieren que algunos mecanismos neurales, quizás a nivel central operan para influir en la responsividad materna, afectando tal vez, mecanismos sensoriales y motores trigeminales, entre otros (MacDonnell y Flynn; 1966; Numan 1988). Así, entonces la entrada sensorial-táctil, desde la región perioral, quizás sea inefectiva en disparar ciertas respuestas maternas en un organismo no maternal, pero como resultado de la activación de mecanismos centrales apropiados quizás sean efectivos en las hembras durante el postparto.

Si bien en la rata, la olfacción no parece ser esencial para las respuesta maternas dirigidas hacia las crías, una reciente línea de investigación indica que la olfacción juega un papel inhibitorio en el control de la conducta maternal. Ratas vírgenes a diferencia de las ratas parturientas, no son inmediatamente responsivas a las crías (Rosenblatt, 1967). Esto es lo que se esperaría si los eventos endócrinos asociados con la terminación del parto fuesen los promotores de la conducta maternal. Sin embargo, la producción experimental de anosmia en estas hembras vírgenes promueve la responsividad maternal aún en ausencia de la estimulación hormonal (Mayer y Rosenblat, 1977):

Lo anterior sugiere entonces que, los olores de las crías quizás inhiben la expresión de la conducta maternal en hembras vírgenes, y que uno de los modos en que la estimulación hormonal maternal actúa, es modificando la respuesta de la hembra parturienta ante el olor de las crías.

Las dos estructuras quimiorreceptivas que se encuentran dentro de la cavidad nasal, son el epitelio olfatorio primario y el órgano vomeronasal (Raisman, 1972). Fleming y col., 1979, han demostrado que estas dos fuentes de entrada olfatoria inhiben la conducta maternal en hembras vírgenes. Así, la remoción quirúrgica de la entrada olfatoria desde el órgano vomeronasal y el sistema olfatorio principal, facilitan la conducta maternal en hembras vírgenes; una facilitación menor se puede observar al eliminar sólo uno de los dos sistemas.

Control Neural de la Conducta Maternal.

Neocorteza.

Beach, produjo lesiones neocorticales de varios tamaños en ratas hembra, estas hembras fueron subsecuentemente apareadas y su conducta maternal analizada. Las lesiones que involucraron más del 20 % de la neocorteza produjeron sólo ligeros déficits en la CM, mientras que las lesiones grandes produjeron déficits más severos. Cuando más del 40 % de la corteza fue destruida la CM (acarreo, conducta de amamantamiento, construcción del nido) fue virtualmente eliminada. Beach concluyó que la alteración en la CM estaba relacionada al tamaño de las lesiones, más que a las áreas involucradas en ellas. Esto es, varias regiones de la neocorteza contribuyen de algún modo a la regulación de la CM en la rata, pero ninguna parece ser esencial. Los hallazgos de que grandes lesiones en la neocorteza alteran la CM han sido confirmadas por otros grupos (Numan, 1988).

Corteza de la línea media, Hipocampo y Septum.

En la rata la corteza medial (esto es, la corteza interhemisférica que incluye la corteza límbica del cíngulo y la neocorteza medial anterior) el hipocampo y el septum están interconectados anatómicamente. Así lesiones de cualquiera de estas áreas producen déficits similares en la ejecución de la CM (Numan, 1994). En efecto, las lesiones de la corteza medial así como las lesiones en el hipocampo alteran la CM en la rata. Por su parte las lesiones del área septal, situada rostral y dorsal al área preóptica- desorganiza la construcción del nido y la conducta de acarreo en ratas postparto (Fleischer y Slotnick, 1987). Estos déficits, sin embargo, son distintos de los causados por el daño preóptico. La destrucción del área septal no provoca alteraciones en la disponibilidad de las hembras lesionadas para cuidar a sus crías, por el contrario la lesión provoca la desorganización de las respuesta maternas individuales sobre el tiempo y el espacio. Las madres con lesiones

septales acarrear persistentemente a sus crías alrededor de la caja y las sueltan en sitios diversos. El acarreo, si bien desorganizado es persistente, por lo que las hembras rara vez inician la construcción del nido o la conducta de nursing (Numan, 1988).

Por su parte Slotnick, encontró durante la prueba de acarreo, que las ratas lesionadas en el cíngulo acarreaban repetidamente a sus crías dentro y fuera del nido, y que aún las soltaban aleatoriamente por la caja. Terlecki y Sainsbury describieron que las lesiones de la fimbria (una vía de fibras que conecta al hipocampo con otras regiones cerebrales, incluyendo el septum) construyen múltiples nidos pequeños y acarrear a algunas crías a cada uno de ellos (Numan, 1988).

Diversos reportes de investigación han mostrado que en efecto, el sistema septo-hipocámpal y la región de la corteza medial, así como sus interconexiones juegan un papel muy importante en la percepción espacial y en la memoria espacial. Así las lesiones referidas al producir déficits sobre la percepción o la memoria producen aberrantes ejecuciones del acarreo (Numan, 1994).

Amígdala.

Esta estructura se ha mostrado que ejerce un control inhibitorio sobre la conducta maternal en la rata. Fleming y su grupo describieron que las lesiones en la región de la amígdala medial, facilitan las respuestas de las hembras vírgenes ante las crías. De manera muy importante, la amígdala medial recibe entradas, desde el órgano vomeronasal y la facilitación de la conducta maternal es equivalente a la observada en hembras vírgenes con daño selectivo de la vía vomeronasal (Fleming y col., 1979). Las relaciones relevantes entre el órgano vomeronasal, amígdala y el APMH se ilustran en la fig. 1 (De Olmos y Ingram, 1972; Krettek y Price, 1978; Scalia y Winans, 1975; Simerly y Swanson, 1986).

En contraste, en los animales postparto, una amígdala intacta no es esencial para la ejecución de la CM, las lesiones de la estria terminalis, la ruta eferente que conecta a la amígdala con otras regiones cerebrales no altera la ejecución de la CM de ratas postparto (Numan, 1994).

Experimentos subsecuentes en la rata, han analizado el posible papel inhibitorio de la amígdala sobre la CM. Fleming y col., 1980, examinaron las latencias de sensibilización de hembras vírgenes lesionadas en la amígdala. Encontraron que mientras las hembras control

comenzaron a mostrar CM después de 8 días de estimulación con crías, las hembras lesionadas mostraron latencias más cortas (3 días). Fleming describió que, si bien la amígdala recibe aferencias olfatorias de los bulbos olfatorios, éstos estímulos podían inhibir la CM en ratas vía su conexión con la amígdala.

El **Esquema 1**, es un diagrama adaptado de Raisman 1972 citado por Numan, 1988, que nos muestra las relaciones anatómicas del doble sistema olfatorio de los roedores. Vemos que las proyecciones del bulbo olfatorio accesorio, el cual recibe aferencias vomeronasales, son independientes de las proyecciones del bulbo olfatorio principal. Es importante señalar que la entrada vomeronasal alcanza la amígdala corticomedia, sitio en donde Fleming y col., 1980, facilitaron la expresión de la CM.

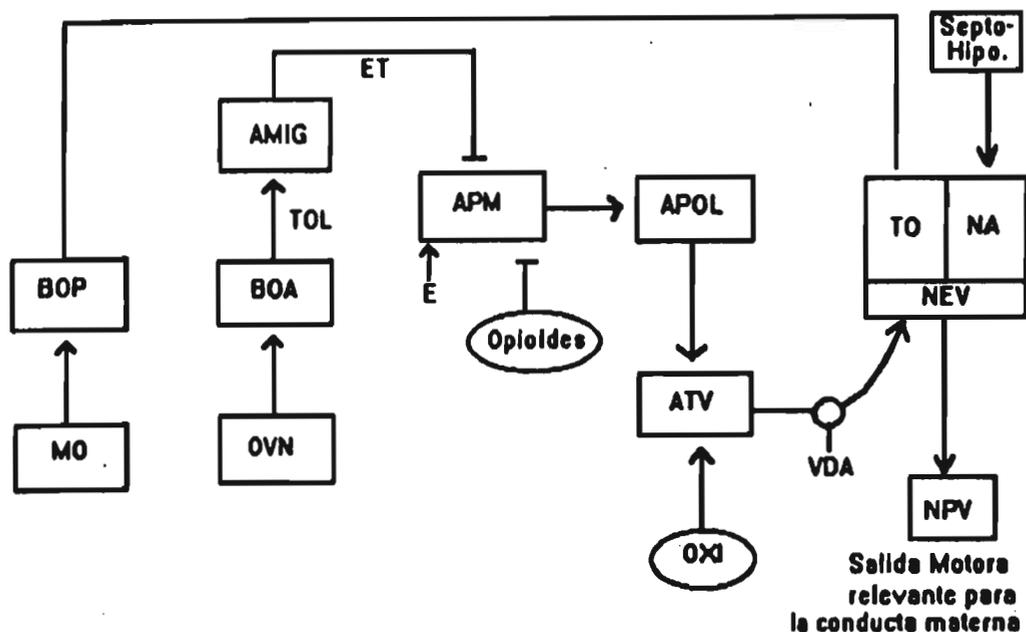
La facilitación de la CM descrita por Fleming es similar a la descrita después de los cortes del nervio vomeronasal, 3-4 días. Mientras que las cortas latencias de sensibilización, 1 día, se han descrito para las hembras lesionadas tanto en el bulbo olfatorio principal como en los nervios del vomeronasal. (Fleming y col., 1979). La hipótesis emergente de estas observaciones establece que durante la sensibilización los estímulos novedosos provenientes de las crías, activan las conexiones centrales de ambos sistemas olfatorios, los cuales entonces ejercen una influencia inhibitoria sobre la expresión de la CM de hembras vírgenes. La lesión en la amígdala, replicaría sólo parcialmente la facilitación provocada al dañar combinadamente el bulbo olfatorio principal y los nervios vomeronasales, ya que estas lesiones sólo interfieren con las conexiones centrales del sistema vomeronasal-bulbo olfatorio accesorio, dejando la inhibición olfatoria primaria intacta, lo cual actuaría sobre los tubérculos olfatorios o la corteza piriforme (Numan, 1989).

En el esquema referido observamos que la amígdala corticomedia proyecta, a través de la estria terminalis, hacia el área preóptica media (APMH). Fleming encontró que para facilitar la CM por sensibilización, las lesiones de la estria terminalis son igual de efectivas que las lesiones amigdalinas. Así entonces se propone que la entrada vomeronasal quizás inhibe la CM al deprimir la actividad del APMH en hembras vírgenes (Fleming y col., 1980).

El conocimiento reciente de las relaciones anatómicas centrales de los sistemas olfatorios ha mostrado que los bulbos olfatorios accesorio y principal proyectan a regiones

ESQUEMA 1.

Modelo que describe algunas estructuras del circuito neural propuesto para regular la conducta materna de la rata hembra.



Cuadros= núcleos cerebrales; Ovalos= Compuestos cuyo origen neural es desconocido; (OXI, oxitocina); ⊥= relaciones inhibitorias; AMIG, amígdala; APM, área preóptica media; APOL, área preóptica lateral; ATV, área tegmental ventral. BOA, bulbo olfatorio accesorio; BOP, bulbo olfatorio principal; E, estradiol; ET, estria terminalis; MO, mucosa olfatoria; NA, núcleo accumbens; NEV, núcleo estriado ventral; NPV, núcleo pálido ventral; OVN, órgano vomeronasal; Septo-Hipo., sistema septo-hipocámpico; TO, tubérculo olfatorio; TOL, tracto olfatorio lateral; VDA, vía dopaminérgica. (Modificado de M. Numan *Maternal Behavior*, en E. Kröbil y J. Neill et al. (ed.), *The Physiology of Reproduction*. Raven Press. N.Y. 1988).

diferentes de la amígdala. De tal modo que la "amígdala olfatoria primaria" y la "amígdala vomeronasal" pudieran contribuir a la estria terminal (Ketter y Winans, 1981).

Lo que si parece claro es que el APMH (o lo que algunos han referido como la unión preóptica media-unión hipotalámica, o la continuación preóptica del núcleo del lecho de la estria terminal recibe su aferencia desde la "amígdala vomeronasal". Así, la idea de que las lesiones de la amígdala corticomedia (vomeronasal) y de la estria terminal facilitan la CM, al remover la inhibición vomeronasal hacia el APM es aún atractiva (Numan, 1994).

Area preóptica media hipotalámica (APMH).

Esta estructura, situada en la región basal anterior del cerebro, es de las más importantes en el control neural de la conducta maternal. El APMH situada rostral al hipotálamo anterior es caudal al área septal, en cuanto a su relaciones anatómicas en la banda diagonal lateral al APMH se sitúa el área preóptica lateral (LPOA), mientras que dorsal APMH se encuentran tanto el núcleo del lecho de la estria terminalis como la comisura anterior.

Las lesiones electrolíticas o de radio frecuencia del APMH realizadas sobre madres lactantes después del parto alteran el acarreo, la construcción del nido y la conducta de echarse sobre las crías (Jacobson y col., 1980; Numan, 1974; Numan y col., 1988). La destrucción selectiva del APMH (los cuerpos celulares) con N-Metil-DL- Acido aspártico (NMA), un aminoácido selectivo que destruye cuerpos neuronales y conserva las fibras de paso, también altera la construcción del nido, el acarreo y la postura materna de echarse sobre las crías (Numan y col., 1988).

Así entonces, la integridad anatómica y funcional de las neuronas que forman el APMH resultan ser esenciales para la ejecución correcta de la conducta maternal.

Evidencias de que las eferentes del APMH también son importantes para la conducta maternal surgen de estudios empleando las técnicas de corte con cuchilla (Franz y col., 1986; Miceli y col., 1983; Numan, 1974; Numan y Callahan, 1980; Numan y Corodimas, 1985; Terkel y col., 1979), estos estudios sugieren que son la conexiones eferentes laterales del APMH, las más importantes para la ejecución de la conducta maternal. En este sentido Numan y Callahan proveen de los mejores resultados en hembras que recibieron cortes que destruyeron las eferentes laterales, dorsales, anteriores y posteriores del APMH. El hallazgo

básico aquí, es que sólo las hembras que recibieron las lesiones en las conexiones laterales, fueron las que mostraron alteración en la ejecución de la conducta maternal (Numan y Callahan, 1980).

En todos los estudios citados anteriormente, los efectos agudos del daño preóptico sobre la conducta maternal se analizaron. Esto es, la conducta maternal se analizó dentro de las primeras 24 horas posteriores a la producción del daño cerebral, registrándose continuamente a lo largo de una o dos semanas. Se observó que el cuidado de las crías, el acarreo y la construcción del nido disminuyeron y que las crías no ganaron un peso apropiado. Es importante citar que muchos de estos estudios reportaron que los componentes orales de la conducta maternal (acarreo y construcción del nido) se deprimieron más que lo observado en otras conductas maternas, por ejemplo, la madre echada sobre las crías.

A largo plazo este efecto del daño preóptico se acentuó (Jakubowski y Terkel, 1986). Las ratas hembras que recibieron cortes lesionando las conexiones laterales del APMH o cortes simulados; a las dos semanas después de la operación fueron apareadas. Después de los 22 días de preñez dieron a luz normalmente y su conducta maternal fue estudiada por dos semanas. Si bien todas las hembras limpiaron las placentas de sus crías al momento del parto, el acarreo se eliminó completamente y si bien construyeron nidos, estos fueron inferiores en calidad (forma) a los construidos por las hembras testigo. En contraste, el tiempo empleado en el amamantamiento de las crías no difirió entre los grupos. Siendo capaces de lactar, las crías mostraron incrementos de peso de cerca del 10 % por día, en contraste al incremento del 16 % diario mostrado por las crías de las hembras sham. Así entonces se mostraba que las conexiones laterales del APMH eran las más importantes para el despliegue de la conducta de acarreo. La alteración observada como resultado de alterar las conexiones laterales es más o menos permanente.

Para discernir que tanto había una alteración del acarreo maternal o del acarreo bucal en general, Numan y Corodimas, 1985, mostraron que en estas hembras se presenta el almacenamiento de dulces con peso y tamaños similares al de sus crías. Los efectos del daño preóptico sobre aspectos de conducta maternal, otros aparte del acarreo, construcción del nido y la postura de amamantamiento, no han sido aún correctamente examinados. Ya que el

APMH contiene una gran concentración de neuronas que unen estrógeno y progesterona, esta estructura puede ser el sitio donde los esteroides actúan para afectar la aparición de la CM. Se ha sugerido que los incrementos en el estradiol durante la gestación tardía se unen a su receptor en el APMH, y de este modo estimulan la síntesis proteica por activación de genes. Esta alteración en la síntesis podía ser el resultado de cambios en los niveles de neurotransmisores o sus receptores, produciéndose entonces un cambio en la actividad eléctrica del APMH y por ello la facilitación de la CM. De tal modo que se podía postular que quizás la progesterona inhibe la CM disminuyendo la concentración de receptores a estrógenos en el APMH, de tal modo que la ausencia de progesterona es vital para que los estrógenos ejerzan su función de síntesis proteica (Numan, 1994).

REFERENCIAS

- Adels, L.E., Leon, M., Wiener, S.G. y Smith, M. Endocrine response to acute cold exposure by lactating and non-lactating norway rats. *Physiol. Behav.*, 36:179-181, 1986.
- Ahmed, M. G. E., Bedi, K. S. Warren, M. A. and Kamel. M. M. 1987. Effect of a lengthy period undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the synapse: Granule cell neuron ratio in the rat dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* 263:146-158
- Alman., R. y Lembeck, F. Capsaicin sensitive afferent neurons from peripheral glucose receptors mediate the insulin-induced increase in adrenaline secretion. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 334:71-76, 1986.
- Alman. R. y Lembeck, F. Stress induced ACTH release in capsaicin treated rats. *Br. J. Pharmacol.* 90:727-731, 1987.
- Altman, J. Sudarshan, K. Das, G. D. McCormick, N. and Barnes, D. The influence of nutrition on neural and behavioral development. III. Development of some motor, particularly locomotor patterns during infancy. *Dev. Psychobiol.* 4:97-114, 1971.
- Altman, J. Sudarshan, K. Das, G. D. McCormick, N. and Barnes, D. The influence of nutrition on neural and behavioral development. III. Development of some motor, particularly locomotor patterns during infancy. *Dev. Psychobiol.* 4:97-114, 1970.
- Altman, J. Sudarshan, K. Das, G. D. McCormick, N. and Barnes, D. The influence of nutrition on neural and behavioral development. III. Development of some motor, particularly locomotor patterns during infancy. *Dev. Psychobiol.* 4:97-114, 1971.
- Almli, C.R., Henault, M.A., Velozo, C.A. y Morgane, P.J. Ontogeny of electrical activity of main olfactory bulb in freely-moving normal and malnourished rats. *Brain Res.* 350:1-11, 1985.
- Almeida, S., Soares, E., Bichuette, M., Graeff, F. y de Oliveira, L. Effects of early postnatal malnutrition and clordiazepoxide on experimental aversive situations. *Physiol. Behav.* 51:1195-1199, 1992.
- Alleva, E., Alloe, L., Bigi, S. y Deasetis, L. Capsaicin affects agresive behavior but not hot plate responding of adult male mice. *Physiol. Behav.*, 49:715-719, 1991.

Angulo-Colmenares.A.G., Vaughan, D.W. y Hinds ,J.W. Rehabilitation following early malnutrition in the rat:body weight, brain size and cerebral cortex development. Brain Research 169:121-138,1979.

Arvidsson, J. y Ygge, J. A quantitative study of effects of neonatal capsaicin treatment and of subsequent peripheral nerve transection in the adult rat. Brain Res. 397:130-136, 1986.

Barnes, D. y Altman, J. Effects of different schedules of early undernutrition on the preweaning growth of the rat cerebellum. Exp. Neurol., 38:406-419, 1973.

Bass, N.H., Netsky, M.G. y Young, E. Effect of neonatal malnutrition on developing cerebrum. I. Microchemical and histologic study of cellular differentiation in the rat. Arch. Neurol. (Chic.)23:289-320, 1970.

Baverstock, P. and Green, B. Water recycling in lactation. Science, 187:657-658.

Bedi, K.S. Effects of undernutrition in early life on granule cell numbers in the rat dentate gyrus. J. Comp. Neurol. 311:425-433, 1991, 1975.

Bennet, T. y Gardiner,S.M. Neonatal capsaicin treatment impairs vassopresin-mediated blood pressure recovery following acute hypotension. Br. J. Pharmacol. 81:341-345, 1984

Bennet, T. y Gardiner,S.M. Neonatal treatment with capsaicin impairs hormonal regulation of blood pressure in adult water-deprived, Long-Evans but not Brattleboro rats. Neurosci. Lett. 63:131-134, 1986.

Biel, W.C. The effect of early inanition on a developmental schedule in the albino rats. J. of Comp. Psychol. 28:1-15, 1939.

Bigi, S., Deasetis, L., DeSimone, R., Alloe, L. and Alleva, E. Neonatal capsaicin exposure affect isolation-induced aggressive behavior and hipotalamic substance P levels of adult male mice (Mus musculus). Behav. Neurosci., 107:363-369, 1993.

Bond, S.M., Cervero, F. y Mcqueen, D.S. Influence of neonatally administered capsaicin on barroreceptor and chemoreceptor reflexes in thae adult rat. Br. J. Pharmacol. 77:517-524, 1982.

Boulant, J.A. y Bibnall, K.W. Determinants of hypothalamic neuronal thermosensitivity in ground squirrels and rats. *Amer J. Physiol.*, 225:306-310, 1973.

Borchelt, P.L. Care of the body surface (COBS). En: Denny, M.R. (De). *Comparative Psychology: an evolutionary analysis of animal behavior*. Jhon Wiley and Sons. New York, 363-384, 1980.

Brennan, P., Kaba, H. y Keverne, E. Olfactory recognition: a simple memory system. *Science*, 250:1223-1226, 1990.

Bridges, R. S., Zarrow, M. X., Goldman, B. D., and Denenberg, V. H. A developmental study of maternal responsiveness in the rat. *Physiol. Behav.* 12:149-151, 1974.

Bridge, R. y Mann, P. Prolactin-brain interactions in the induction of maternal behavior in rats. *Psychoendocri.*, 19:611-622, 1994.

Bridges, R. A quantitative analysis of the roles of dosage, sequence, and duration of oestradiol and progesterone exposure in the regulation of maternal behavior in the rat. *Endocrinol.*, 114:930-940, 1984.

Bridges, R., Rosenblatt, J. y Feder, H. Stimulation of maternal responsiveness after pregnancy termination in rats: effect of time of onset of behavioral testing. *Horm. Behav.*, 10:235-245, 1978.

Brunelli, S.A. Shindleddecbrk, R.D. y Hofer, M.A. Behavioral responses of juvenile rats (*Rattus norvegicus*) after infusion of maternal blood plasma. *J. of Comp. Psychol.*, 1:47-59, 1987.

Buck, S. H. y Burks, T. F. The neuropharmacology of capsaicin: Review of some recent observations. *Pharmacol. Rev.* 38:179-226, 1986.

Camacho, M. Ejecución de conductas termoreguladoras y la aparición y el desarrollo de heridas cutáneas en animales adultos tratados neonatalmente con capsaicina. Tesis de Maestría. Universidad Veracruzana, Xalapa, Ver. México. 1995.

Campbell, L.F. y Bedi, K.S. The effects of undernutrition during early life on spatial learning. *Physiol. Behav.* 45:883-890, 1989.

Carobi, C., Garinei, G. Effect of capsaicin on learning retention and extinction of spatial and active avoidance tasks in adult rats neonatally treated. *Cognit. Brain Res.* 2:221-227, 1995.

Carrillo, P.; Manzo, J.; Martínez-Gómez, M.; Salas, M. y Pacheco, P. Neonatal capsaicin administration: Effects on behavioral development of the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 48(2):447-452, 1994.

Carrillo, P., Camacho, M., Manzo, J., Martínez-Gómez, M., Salas, M y Pacheco, P. Cutaneous wounds produced by capsaicin treatment of newborn rats are due to trophic disturbances. *Neurotoxicol. Teratol.*, 20:1-7, 1997.

Cervero, F. y McRithchie, H. A. Neonatal capsaicin does not affect unmyelinated afferent fibers on the autonomic nervous system: functional evidence. *Brain Res.* 239:283-288, 1982.

Cintra, L., Díaz-Cintra, S., Galván, A y Morgane, P.J. Circadian Rhythm of sleeping normal and undernourished rats. *Bol. Estud. Med. Biol. Mex.* 36:1-4, 1988.

Clark, G., Zamenhof, S., Marthens, E., Grauel, L. y Kruger, L. The effect of prenatal malnutrition on dimensions of cerebral cortex. *Brain Res.* 54:397-402, 1973.

Clarke, K. A., Parker, A. J. y Smat, J. L. Analysis of walking locomotion in adult female rats undernourished as sucklings. *Physiol. Behav.*, 52:823-826, 1992.

Clos, J., Favre, C., Selme-Matrat, M y legrand, J. Effects of undernutrition on cell formation in the rat brain and specially on cellular composition of the cerebellum. *Brain res*, 123:13-26, 1977.

Cormareche, L.M. y Bernet, M.E. The effects of capsaicin on emotional responses to odors in the rat. *Physiol. Behav.*, 46:679-684, 1989.

Crnic, L.S. Maternal behaviour in the undernourished rat (*Rattus norvegicus*). *Physiol. Behav.*, 16:677-680, 1976

Cragg, B. G. The developmental of cortical synapses during starvation in the rat. *Brain.* 95:143-150, 1972.

Culley, W. Body temperature of infant rats: effect of maternal diet. *Nutr. Rep. Int.*, 6:359-363, 1972.

Chase, G., Zamenhof, S., Marthens, E., Grauel, L. y Kruger, L. The effect of prenatal malnutrition on dimensions of cerebral cortex. *Brain res*, 54:397-402, 1969.

Chiba, T. y Murata, Y. Afferent and efferent connections of the medial preoptic area in the rat: A WGA_HRP study. *Brain Res. Boll.* 14:261-272, 1985.

Debassio, W. D. and Kemper, T. L. The effects of protein deprivation on neuronal migration in rats. *Dev. Brain Res.* 20:191-196, 1985.

De Groat, W.C., Nadelhaft, I., Milne, R.J., Booth, A.M. y Thor, K. Organization of the sacral parasympathetic reflex pathways to the urinary bladder and large intestine. *J. of. the Auto. Nerv. Syst.* 3:135-160, 1985.

Del Cerro, M.C., Izquierdo, M.A., Segovia, S. y Guillamón, A. Bilateral lesions of the bed nucleus of the accessory olfactory tract facilitate maternal behavior in virgin female rats. *Physiol. Behav.*, 50:67-71, 1991.

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

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Resnick, O. y Morgane, P. J.. The effects of protein deprivation in the nucleus locus coeruleus: a morphometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain. Res.* 304:243-253, 1984.

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

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

Dib, B. Dissociation between peripheral and central heat loss mechanism induced by neonatal capsaicin. *Behav. Neurosci.* 97:822-829, 1983.

Dinh, T.T. y Ritter, S. Capsaicin induces neuronal degeneration in midbrain and forebrain structures in neonatally treated rats. *Soc. Neurosci. Abstr.* 13:1684, 1987.

Dobbing, J. Vulnerable period of brain developmnet. En : *Lipids, Malnutrition and the developing Brain.* Elsevire/Excerpta Medica/North Holland, Amsterdam. pp 9-29, 1972.

Dobbing, J. Vulnerable periods in developing brain. En: Brain, Behavior and Iron in the Infant Diet. Dobbing, J. (Ed.) USA., pp 1-25, 1990.

Donnerer, J. Schuligoid, R. and Lembeck, F. Influence of capsaicin-induced denervation on neurogenic and humoral control of arterial pressure. Naunyn Schimebergs Arch Pharmacol. 340:740-743, 1989.

Donnerer, J. y Lembeck, F. Heat loss reaction to capsaicin through a peripheral site of action. Br. J. Pharmacol. 79:710-723, 1983.

Donnerer, J. y Lembeck, F. Different control of the adrenocorticotropincorticosterone response and of prolactine secretion during cold stress, anesthesia, surgery, and nicotine injection in the rat: involvement of capsaicin-sensitive sensory neurons. Endocrinology 126:921-926, 1990.

Dunbar, I., Ranson, E., y Buehler, M. Pup retrieval and maternal attraction to canine amniotic fluids. Behavior Proceedings, 6:249-260, 1981.

Dyson, S y Jones, D. Some effects of undernutrition on synaptic development. A quantitative ultrastructural study. Brain Res. 114:365-378, 1976.

Egwin, P.O., Cho, B.H. y Kummerow, F.A. Effects of postnatal protein undernutrition on myelination in rat brain. Comp. Biochem. Physiol. 83:67-70, 1986.

Escobar, C. Alteraciones morfológicas en la amígdala y el claustrum asociadas a la desnutrición neonatal en la rata. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1992.

Escobar, C. y Salas, M. Neonatal undernutrition and amygdaloid nuclear complex development: An experimental study in the rat. Exper. Neurol., 122:311-318, 1993.

Escobar, C. y Salas, M. Dendritic branching of claustral neurons in neonatally undernourished rats. Biol. Neonat., 68:47-54, 1995.

Faulkner, D.C. y Growcott, J.W. Effects of neonatal capsaicin administration on the nociceptive response of the rat to mechanical and chemical stimuli. J. Pharm. Pharmacol. 32:656-657, 1980.

Fleischer, A. y Orpen, G. Psychobiology of maternal behavior in rats, selected others species, and humans. En: Fogel, A. (De). Origins of nurturance: developmental, biological, and cultural perspectives on caregivins, 141-207, 1978.

Fleischer, S. y Slotnick, B. Disruption of maternal behavior in rats with lesions of the septal area. *Physiol. Behav.*, 21:189-200, 1978

Fleming, A., Vaccarino, F. y Luebke, C. Amydaloig inhibition of maternal behavior in the nulliparous female rat. *Physiol. Behav.*, 25:731-743, 1980.

Fleming, A. S. and Rosenblatt, J. S. Maternal Behavior in the virgin and lactating rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 86:957-972.

Fleming, A. S. y Luebke, C. 1981. Timidity prevents the virgin female rat from being a good mother: Emotionality differences between nulluparous and parturient females. *Physiol. Behav.*, 27:863-868, 1974.

Fleming, A. S., and Rosenblatt, J. S. Olfactory regulation of maternal behavior in rats. *J. Comp. Physiol. Phychol.*, 86:221-232, 1974b.

Fleming, A. S., and Rosenblatt, J. S. Olfactory regulation of maternal behavior in rats. II. Effects of peripherally induced anosmia and lesions of the lateral olfactory tract in pups-induced virgins. *J. Comp. Physiol. Phychol.*, 86:233-246, 1974.

Fleming, A., Vaccarino, F., Tambosso, L. y Chee, P. Vomeronasal and olfactory system modulation of maternal behavior in the rat. *Science*, 203:372-374, 1979.

Forbes, W.B., Tracy, C., Resnick, O. y Morgane, P.J. Effect of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Experimental Neurol.* 57:440-450, 1977.

Forbes, W., Stern, W.C., Bronzino, J. D., Reisnick, O. y Morgane P.J. Effect of chronic malnutrition on non-specific thalamo-cortical evoked potentials in the rat. *Phsyiol. Behav.*, 14:655-658, 1975.

Franková, s. Effect of early dietary and sensory reduction on behavior of adult rats. *Acti. Nerv. sup. (Praha)*. 14:1-7, 1972.

Franková, S. Influence of the familiarity with the environment and early malnutrition on the avoidance learning

and behavior in rats. *Activ. nerv. Sup. (Praha)*. 15:207-216, 1973.

Franková, S. Relationship between nutrition during lactation and maternal behavior. *Activ. Nerv. Sup. (Praha)*. 14:1-8, 1971.

Fried, K.; Aldekogius, H. y Hildebrand, C. Proportions of unmyelinated axons in rat molar and incisor tooth pulps following neonatal capsaicin treatment and/or sympathectomy. *Brain Res.* 463:116-123, 1988.

Gambetti, P. Autilio-Gambetti, L. Rizzuto, N. Shafer, B. and Pfaff, L. Synapses and malnutrition: Quantitative ultrastructural study of rat cerebral cortex. *Exp. Neurol.* 43:464-473, 1974.

Gamse, R. Capsaicin and nociception in the rat and mouse. Possible role of substance P. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 320:205-216, 1982.

Gamse, R., Holzer, P. y Lembeck, F. Decrease of substance P in primary sensory neurons and impairment of neurogenic plasma extravasation by capsaicin. *Br. J. Pharmacol.* 68:207-213, 1980.

García-Ruiz, M., Parra, L. y Díaz-Cintra, S. Los efectos de la desnutrición sobre los procesos de aprendizaje y memoria en modelos animales. *Rev. Biomed.*, 5:88-108, 1994.

Gordon, Ch. J. Temperature regulation in laboratory rodents. Cambridge Univ. Press. 1993.

Granchow, J.R., Seltzer, Z., y Vochacho, N. The effect of neonatal capsaicin treatment on gustatory behavior in the albino rat. *Physiol. Behav.* 52:1037-1042, 1992.

Grota, L. y Ader, R. Continuous recording of maternal behavior in *Rattus norvegicus*. *Anim. Behav.*, 17:722-729, 1969.

Griffin, W. S. T. Woodward, D. J. Chanda, R. Malnutrition and brain development: Cerebellar weight, DNA, RNA, protein and histological correlations. *J. Neurochem.* 28:1269-1279, 1977.

Grota, L. y Ader, R. Behavior of lactating rats in a dual chambered maternity cage. *Horm. Behav.* 5:275-282, 1974.

Gu, J., Huang, w., Islam, K., McGregor, g., Terenghi, G., Morrison, J., Bloom, S., Polak, J. Substance P-containing nerves in the mammalian genitalia. En: Srabanek, P., Powell,

P. (Eds). Substance P-.Boole Press Limited, Dublin., 263-264, 1983.

Gubernick, D.J. y Alberts, J.R. Maternal licking of young: Resource exchange and proximate controls. *Physiol. Behav.*, 31:593-601, 1983.

Gubernick, D. J. and Alberts, J. R. Maternal licking by virgin and lactating rats: Water transfer from pups. *Physiol. Behav.* 34:501-506, 1985.

Hajos, M.; Obál, F. Jr.; Jancsó, G. y Obál, F. 1983. The capsaicin sensitivity of the preoptic region is preserved in adult rats pretreated as neonates, but lost in rats pretreated as adult. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 324:219-222.

Hajós, M. Capsaicin and brain monoaminergic mechanisms: Neuropharmacological and thermoregulatory aspects. Tesis Doctoral, Universidad de Göteborg, Suiza, 1987.

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

Hammer, R. P. and Marthens, E. Morphological development of the brain stem reticular core in prenatally undernourished rats. *Dev. Brain Res.* 1:203-212, 1981.

Hanse, S. Maternal behavior of male rats with 6-OHDA lesions of the ventral striatum: characterization of the pup retrieval deficit. *Physiol. Behav.*, 55:615-620, 1994.

Hansen, S. Ferreira, A. y Selart, M.F. Behavioral similarities between mother rats and benzodiazepine non-maternal animals. *Psychopharmacology*, 86:344-347. y cols., 1985.

Hard, E. and Hansen, S. 1985. Reduced fearfulness in the lactating rat. *Physiol. Behav.*, 35:641-643.

Hayes, A. G. Skingle, M. Y Tyers, M. B.. Effects of single doses of capsaicin on nociceptive threshold in the rodent. *Neuropharmacology* 20:505-511, 1981a.

Heap, R.B. Galil, A.K. Harrison, F.A., Jenkin, G. y Perry, J.S. Progesterone and oestrogen in pregnancy and parturition: comparative aspects of hierarchical control. In Ciba Foundation Symposium 47. The fetus and birth, pp127-150. Amsterdam. Elsevier, 1977.

- Hellow, R.F. Central projections and processing of skin-temperature signals. *J. Therm. Biol.*, 8:7-8, 1983.
- Hellow, R.F. y Taylor, D.C. An analysis of thermal afferent pathways in the rat. *J. Physiol.*, 326:319-328, 1982.
- Hensel, H. Thermoreceptors. *Ann. Rev. Physiol.*, 36:233-249, 1974.
- Hillman, D. E. and Chen, S. 1981. Vulnerability of cerebellar development in malnutrition. II. Intrinsic determination of total synaptic area on Purkinje cell spines. *Neuroscience*. 6:1263-1275.
- Holje, H.; Hildebrand, C. y Fried, K. Proportion of unmyelinated axons in the rat inferior alveolar nerve and mandibular molar pulps after neonatal administration of capsaicin. *Brain Res.* 266:133-136, 1983.
- Holzer, P. y Lembeck, F. Longitudinal contraction of isolated guinea-pig ileum induced by rapid cooling. *Naunyn-Schiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 310:169-174, 1979.
- Holzer, P. y Sametz, W. Gastric mucosal protection against ulcerogenic factor in the rat mediated by capsaicin-sensitive afferent neurons. *Gastroenterology* 91:975-981, 1986.
- Holzer, P. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerveendings: Involvement of tachikins, calcitonin gene-related peptide and others neuropeptides. *Neuroscience*. 24(3):739-768, 1988.
- Holzer, P. Capsaicin:cellular targets, mechanism of action and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol. Rev.* 43:143-201, 1991.
- Hori, T. y Tsuzuki, S. Thermoregulation in adult rats which have been treated with capsaicin as neonates. *Pflügers Arch. Eur. J. Physiol.* 390:219-223, 1981.
- Hori, T. Capsaicin and central control of thermoregulation. *Pharmacol. Ther.*, 26:389-416, 1984.
- Hunt, L., Smotherman, W., Wiener, S. y Levine, S. Nutritional variables and their effects on the development of ultrasonic vocalization in rat pups. *Physiol. Behav.* 17:1037-1039, 1976.
- Jacobson, M. *Developmental Neurobiology*. Third Edition, Plenum Press. New York. 1991

Jacobson, C.D., Terkel, J., Groski, R.A. y Sawyer, C.H. Effects of medial preoptic area lesions on maternal behavior. *Brain Res.*, 194:471-478, 1980.

Jakobowski, M., y Terkel, J. Female reproductive function and sexually dimorphic prolactin secretion in rats with lesions in the medial preoptic-anterior hypothalamic continuum. *Neuroendocrinology*, 43 696-705, 1986.

Jakobowsky, M. and Terkel, J. Transition from pup killing to parental behavior in male and virgin female albino rats. *Physiology and Behavior*, 34:683-686, 1985

Jakubowski, M., and Terkel, J. Induction by young of prolonged diestrus in virgins rats behaving maternally. *J. Reprod. Fertil.*, 58:55-60, 1980.

Jancsó-Gábor, A., Szolcsányi, J. y Jancsó, N. Stimulation and desensitization of the hypothalamic heat-sensitive structures by capsaicin in rats. *J. Physiol. Lond.*, 208:449-459, 1970.

Jancsó, G. y Kiraly, E. Distribution of chemosensitive primary sensory afferents in the central nervous system of the rat. *J. Comp. Neurol.* 190:781-792, 1980.

Jancsó, G. Sensory nerves as modulators of inflammatory reactions. En: *Antidromic vasodilatation and neurogenic inflammation*, (Chahl, L. A.; Szolcsányi, J. y Lembeck, F. Eds.). Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungria, 1984.

Jancsó, G. y Kiraly, E. Distribution of chemosensitive primary sensory afferents in the central nervous system of the rat. *J. Comp. Neurol.* 190:781-792, 1980.

Jancsó, G. y Maggi, C. A. Distribution of capsaicin-sensitive urinary bladder afferents in the rat spinal cord. *Brain Res.* 418:371-376, 1987.

Jolles, J., Rompa-Barendergt, J y Gispen, W.H. Novelty and grooming behavior in the rat. *Behav. Neur. Biol.*, 25:563-575, 1979.

Koranyi, L., Phelps, C. P. and Sawyer, C. H. Changes in serum prolactin and corticosterone in induced maternal behavior in rats. *Physiol. Behav.* 18:287-292, 1977.

Koranyi, L., Lissak, K., Tamasy, V. y Kamaras, L. Behavioral and electrophysiological attempts to elucidate central nervous system mechanism responsible for maternal behavior. *Archives of Sexual Behavior*, 5:503-510, 1976.

Kuchar, S., Mozes, S., Rybosová, Z., Novarová, V. y Michalov, M. Influence of early undernutrition in rats on their body fat and RNA content in VMH neurons. *Physiol. and Behav.* 52:695-698, 1992.

Laino, C.H., Cordaba, N.E. y Orsingher, A. Perinatally protein-deprived rats and reactivity to anxiolytic drugs in the plus-maze test: an animal model for screening antipanic agents?. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 46:89-94, 1993.

Láts, J. The spontaneous exploratory reaction as a tool for psychopharmacological studies. A contribution towards a theory of contradictory results in psychopharmacology. *Proc. 2nd. int. pharmac. Meeting.* 1:47-66, 1965.

Lawson, S. N. y Nickels, S. M. The use of morphometric techniques to analyze the effects of neonatal capsaicin treatment on rat dorsal root ganglia and dorsal roots. *J. Physiol. (Londres)* 303:12p., 1980.

Lawson, S. N. y Harper, A. A. 1980. A neonatal capsaicin is not a specific neurotoxin for sensory C-fibres or small dark cells of rats dorsal root ganglia. En: *Antidromic vasodilation and neurogenic inflammation*, (Chahl, L. A.; Szolcsányi, J. y Lembeck, F. (Eds.)) pp 111-116, Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungria, 1980.

Lembeck, F. y Skofitsch, G. Visceral pain reflex after pretreatment with capsaicin and morphine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 321: 116-122, 1982.

Lembeck, F. Columbus, capsicum and capsaicin: past, present and future. *Act. Physiol. Hung.* 69:265-273, 1987.

Lembeck, F. The 1988th Ulf von Euler Lecture. Substance P: From extract to excitement. *Acta Physiol Scand.* 163:435-454, 1988.

Leon, M., Coopersmith, R. Beasley, L. y Sullivan, R. Thermal aspects of parenting. In: *Krasgenor, N. y Bridges, R. (eds). Mammalian Parenting.* Oxford Univ. Press. pp 400-415, 1990.

Leon, M., Adels, L. y Coopersmith, R. Thermal limitation of mother-young contact in norway rats. *Developm. Psychol.*, 18:85-105, 1985.

Leon, M., Croskerry, P. y Smith, G. Thermal control of mother-young contact in rats. *Physiol. Behav.*, 21:793-811, 1978.

Leon, M. Development of thermoregulation. En: *Blass, E. (De). Handbook of behavioral neurobiology.* Plenum Press, New York, 8:297-322, 1985b.

Levitsky, D. A. y Barnes, R. H. Nutritional environmental interactions in the behavioral development of the rat: Long-term effects. *Science*. 176:68-71, 1970.

Lewis, P. D., Balász, R., Patel, A. J. y Johnson, A. L. The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. *Brain Res.*, 83:235-247, 1975.

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

Lisk, R.D., Prelow, R.A. and Friedman, S.A. Hormonal stimulation necessary for eliciting of maternal nest building in the mouse. *Animal Behavior*, 17:730-738, 1969.

Lisk, R. D., Oestrogen and progesterone synergism and elicitation of maternal nest-building in the mouse (*Mus musculus*). *Anim. Behavior.*, 17:606-661, 1971.

Lopez, H.P., Haeusler, G. y Aeppli, M. Substance P neurons in medullary baroreflex areas and baroreflex areas and baroreflex function of capsaicin treated rats. Comparations with other primary afferents systems. *Neuroscience*, 8:507-523, 1983.

Lundberg, J. M. y Saria, A. Polypeptide-containing neurons in airway smooth muscle. *Annu. Rev. Physiol.* 49:557-572, 1987.

Lundbland, L., Saria, A., Lundberg, J.m. y Anggard, A. Increased vascular permeability in rat nasal mucosa induced by substance P and stimulation of capsaicin-sensitive trigeminal neurons. *Acta Oto-laryngol*, 96:479-484, 1983.

Lynn, B. Effects of neonatal treatment with capsaicin on the numbers and properties of cutaneous afferents units the hairy skin of the rat. *Brain Res.* 322:255-260, 1984.

MacDonald, G. y Matt, D. Adrenal and placental steroid secretion during pregnancy in the rat. *Endocrinol.*, 114:2068-2073, 1984.

MaConell, P. y Berry, M. The effect of refeeding after neonatal starvation of Purkinje cell dendritic growth in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 178:759-772, 1978.

Maggi, C.A. Capsaicin sensitive nerves in the gastrointestinal tract. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 303:157-166, 1990.

Maggi, C.A. 1991. Capsaicin and primary afferents neurons: from basic science to pain therapy. *J. Auto. Nerv. Sys.* 33:1-14.

Maggi, C.A. Borsini, F. Santiccioli, P. Geppeti, P. Abelli, L. Evangelista, S. Manzini, S. Theodorson, E. Somma, V., Amenta, F., Bacciarelli, C y Meli, A. Cutaneous lesions in capsaicin pretreated rats. A trophic role of capsaicin-sensitive afferents?. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 336:538-545, 1987.

Maggi, C.A., Meli, A. y Santiccioli, P. Four motor effects of capsaicin on guinea-pig distal colon. *Br. J. Pharmacol.* 90:651-660, 1987.

Manzo, J., Carrillo, P., Cornejo, L., Salas, M. y Pacheco, P. Behavioral development of intact and neonatal capsaicin treated rats. *Society for Neurosci. Abst.* 17:1495, 1991.

Marinari, K. T., and Moltz, H. 1978. Serum prolactin levels and vaginal cyclicity in concaveated and lactating female rats. *Physiol Behav.* 21:525-528.

Massaro, T. F., Levitsky, D. A y Barnes, R. H. 1977. Protein malnutrition induced during gestation: its effect on pup developmental and maternal behavior. *Dev. Psychobiol.* 10:339-345.

Master, D.B. y Komisaruk, B. Neonatal capsaicin treatment attenuates sensory-induced analgesia and nociception. *Physiol. Behav.* 50:901-906, 1991.

Mayer, A. y Rosenblatt, J. Effects of intranasal zinc sulfate on open field and maternal behavior in female rats. *Physiol. Behav.* 18:101-109, 1977.

Mayer, A. D., and Rosenblatt, J. S. 1984. Prepartum changes in maternal responsiveness and nest defense in *Ratus norvegicus*. *J. comp. Psychol.* 98:177-188.

Mayer, M. L., and MacLeod, N. K. 1979. The excitatory action of substance P and stimulation of the stria terminalis bed nucleus on preoptic neurones. *Brain Res.* 166:206-210.

Mayer, A.D. The ontogeny of maternal behaviour in rodents. In Elwood, R.W. (Ed.) *Parental behavior of rodents.* pp 1-21, Wiley, 1983.

McCarthy, M.M., Bare, J.E. y vom Saal. Infanticide and parental behavior in wild female house mice: Effects of ovariectomy adrenalectomy and administration of oxytocin and prostaglandin F2 alpha. *Physiol. and Behav.* 36:17-23, 1986.

- McCormack, J. T. and Greenwald, G. S. 1974. Progesterone and oestradiol-17 β concentrations in the peripheral plasma during pregnancy in the mouse. *J. endocrinol.*, 62:101-107.
- McDougal, D. B.; Yuan, M. J. C. y Johnson, E. M. 1985. Effect of capsaicin upon fluoride sensitive acid phosphatases in selected ganglia and spinal cord and upon neuronal size and number in dorsal root ganglion. *Brain Res.* 331:63-70.
- Moore, C. L. y Rogers, S. A. Contribution of self-grooming to onset the puberty in male rats. *Dev. Psychobiol.* 17:243-253, 1978.
- Mourek, J., Himwich, W. A., Myslivecek, J. y Callison, D. A. 1967. The role of nutrition in the development of evoked cortical responses in the rat. *Brain Res.*, 6:241-251.
- Morgane, P., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, E., Hawrylewicz, E. y Resnick, O. The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neuroscience Biobehavioral Review*, 2:137-230, 1978.
- Morgane, P. J, Austin-LaFrance, R. Bronzino, J. Tonkiss, J. Díaz-Cintra, L. Kemper, T. Galler, J. R. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosc. Biobehav. Rev.* 17:91-12, . 1993.
- Nakhasi, H.L. Toews, a.D. y Horrocks, L.A. Effects of a postnatal protein deficiency on the content and composition of myelin from brains of weaning rats. *Brain Res*, 83:176-179, 1975.
- Nagy, J. I. Iversen, L. I. Goedert, M. Chapman, D. y Hunt, S. P. 1983. Dose dependent effects of capsaicin on primary sensory neurons in the neonatal rat. *J. Neurosci.* 3:399-406.
- Nagy, J.I., Vincent, S.R., Staines, W.A., Fibiger, A.C., resine, T.D. y Yamamura, H.I. Neurotoxic action of capsaicin on spinal substance P neurons. *Brain Res.*, 186:435-444, 1980.
- Nagy, J. Y.. Capsaicin: A chemical probe for sensory neuron mechanisms. En: *Handbook of psychopharmacology.* (Iversen, L. L.; Iversen, S. D. y Snyder, S. H. Eds.). Vol. 15, pp. 185-235. Plenum Press. New York, 1982.
- Nagy, J.I., Goedert, M., Hunt, S.P. y Bond, A. The nature of the substance P- containing nerve fibers in taste papillae of the rat tongue. *Neuroscience* 7:3137-3151, 1982.

Nance, D., King, T.R. y Nance, P.W. Neuroendocrine and behavioral effects of intrathecal capsaicin in adult female rats. *Brain Res. Bull.* 18:109-114, 1987.

Numan, M. and Numan, M. A lesion and neuroanatomical tract-tracing analysis of the role of the bed nucleus of the stria terminalis in retrieval behavior and other aspects of maternal responsiveness in rats. *Develop. Psychol.*, 29:23-51, 1996.

Numan, M. y Smith, H. Maternal behavior in rats: evidence for the involvement of preoptic projections to the ventral tegmental area. *Behav. Neurosci.*, 98:712-727, 1984.

Numan, M. y Numan, M.J. Expression of Fos-like immunoreactivity in the preoptic area of maternally behaving virgin and postpartum rats. *Behav. Neurosci.*, 108:379-394, 1994

Numan, M., Rosenblatt, J. y Komisaruk, B. Medial preoptic area and onset of maternal behavior in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 91:146-164, 1977.

Numan, M. y Coridimas, K. The effects of paraventricular hypothalamic lesions on maternal behavior in rats. *Physiol. Behav.*, 35:417-425, 1985.

Numan, M. y Callahan, E. The connections of the medial preoptic region and maternal behavior in the rat. *Physiol. Behav.*, 25:653-665, 1980.

Numan, M., Numan, M.J., y English, J.B. Excitotoxic amino acid injections into the medial amygdala facilitate maternal behavior in virgin female rats. *Horm. Behav.*, 27:56-81, 1993.

Numan, M. 1994. Maternal Behavior. In: Knobil, E. y Neill, J. (Eds.) *The physiology of reproduction*. Vol. 2., pp- 221-302, Raven Press, 1994.

Obál, F. Jr., Jancsó, G. Hajós, M. y Obál, F. Differences in the mechanism of the thermoregulatory impairment induced by capsaicin in newborn and adult rats. *Act. Physiol. Hung.* 69:437-445, 1987.

Obál, F. Jr., Benedeck, G., Jancsó-Gabor, A. y Obál, F. Salivary cooling, escape reaction and heat pain in capsaicin-desensitized rats. *Pfügers. Arch.* 382:249-254, 1980.

Obál, F. Jr., Benedeck, G., Jancsó-Gabor, A. y Obál, F. Tail skin vasodilation and bath test in capsaicin-desensitized rats. *Pfügers. Arch.*, 387:183-188, 1980.

Obál, F. Jr., Jancsó, G., Jancsó-Gabor, A., y Obál, F. Vasodilatation on preoptic heating in capsaicin-treated rats. *Experientia*, 39:221-223, 1983.

Ogilvy, C. S.; Silverger, K. R. y Borges, L. F. 1991. Sprouting of corneal sensory fibers in rats treated at birth with capsaicin. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 32:112-121.

Otten, U.; Lorez, H.P. y Businger, F. 1983. Nerve growth factor antagonizes the neurotoxic action of capsaicin on primary sensory neurons. *Nature* 301:515-517.

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

Pellicer, F., Picazo, O., Gómez-Tagle, B. y Roldán, I. Capsaicin of feeding with red peppers during gestation changes the thermonociceptive response of rat offspring. *Physiol. Behav.*, 60:435-438, 1996.

Peppe, G. y Rosthchild, I. The effect of hypophysectomy on day 12 of pregnancy on the serum progesterone level and time of parturition on the rat. *Endocrinol.*, 91:1380-1385, 1972.

Perez, H., Ruiz, S., Inostroza, H. y Perretta, M. Neonatal capsaicin treatment impairs functional properties of primary olfactory afferents in the rat. *Neurosci Lett.*, 107:251-254, 1991.

Poindrón, P., and Le Neindre, P. 1980. Endocrine and sensory regulation of maternal behavior in the ewe. In: *Advances in the study of Behavior*, Vol. II, edited by J. S. Rosenblatt, R. A. Hinde, C. Beer, and M. C. Busnel, pp. 75-119. Academic Press, New York.

Rabe, L.S., Buck, S.H., Moreno, L., Burks, T. y Dafny, N. Neurophysiological and thermoregulatory effects of capsaicin. *Brain Res. Bull.*, 5:755-758, 1980.

Raisman, G. An experimental study of the projection of the amygdala to the accessory olfactory bulbs and its relationship to the concept of a dual olfactory system. *Exper. Brain Res.* 14:395-408, 1972.

Reddy, P.V. Anasuya, D. y Sastry, P.S. Quantitative and compositional changes in myelin of undernourished and protein malnourished rat brains. *Brain Res.* 161:227-235, 1979.

Reddy, T.S. y Horrocks, L.A. Effects of neonatal undernutrition on the lipid composition of gray matter and white matter in rat brain. *J. Neurochem.* 38:601-605, 1982.

Regalado, M. Alteraciones de la conducta maternal en ratas neonatalmente desnutridas. Tesis de Licenciatura. Escuela de Biología. Universidad autónoma de Puebla. México. 1993.

Ritter, S. y Dinh, T.T. Prior unilateral optic nerve transection abolishes capsaicin-induced degeneration in diencephalic and pretectal visual structures. Soc. Neurosci. Abs., 15:461, 1989.

Ritter, S. y Dinh, T. Capsaicin: a probe for studying specific neuronal populations in brain and retina. En: Conn, M. (De). Neurotoxins. Methods in Neuroscience, 8:118-136, 1992.

Ritter, S. y Dinh, T. Capsaicin-induced neuronal degeneration: Silver impregnation of cell bodies, axons and terminals in the central nervous system of the adult rat. J. Comp. Neurol. 271:79-90, 1988.

Ritter, S y Dinh, T. Capsaicin-induced neuronal degeneration in the rat and retina of preweaning rats. J. Comp. Neurol. 296:447-461, 1990.

Rizvi, T.A., Ennis, M., Aston-Jones, G., Jiang, M., Lui, W.E., Behnehani, M. y Shipley, M.T. Preoptic projections to Barrington's nucleus and the pericoerulear region: architecture and terminal organization. J. Comp. Neurol., 347:1-24, 1992.

Roberts, W.W. y Frol, A.B. Interaction of central and superficial peripheral thermosensors in control of thermoregulatory behaviors of the rat. Physiol. Behav. 23: 503-512, 1979.

Rogers, P.J., Tonkiss, J. y Smart, J.L. Incidental learning is impaired during early-life undernutrition. Dev. Psychobiol. 19:113-124, 1986.

Rogers, P.J., Tonkiss, J. y Smart, J.L. Incidental learning is impaired during early-life undernutrition. Dev. Psychobiol. 19:113-124, 1986.

Rosenblatt, J. Landmarks in the physiological study of maternal behavior with special reference to the rat. En: Krasgenor, N. y Bridges, R. (Eds.) Mammalian Parenting, Oxford University Press, pp 41-60, 1990.

Rosenblatt, J. S., Siegel, H. I., and Mayer, A. D. 1979. Progress in the study of maternal behavior in the rat: Hormonal, nonhormonal, sensory, and developmental aspects. In: Advances in the study of Behavior, vol 10, Edited by J. S. Rosenblatt, R. A. Hinde, C. G. Beer, and M.-C. Busnel, pp. 225-311. Academic Press, New York.

Rosenblatt, J. y Siegel, H.I. Physiological and behavioral changes during pregnancy and parturition underlying the onset of maternal behaviour in rodents. In: R. W. Elwood (De.). Parental behaviour of rodents. London. pp23-66, 1983.

Rosenblatt, J. y Siegel, H.I. Hysterectomy-induced maternal behavior during pregnancy in the rat. J. Comp. Phsyiol. Psycho. 89:685-700, 1975.

Rosenblatt, J. S. 1967. Nonhormonal basis of maternal behavior in the rat. Science, 156:1512-1514

Rosenblatt, J. S. and Lehrman, D. S. 1963. Maternal behavior in the laboratory rat. In: Maternal Behavior in Mammals, Edited by H. L. Rheingold, pp. 8-57. John Wiley & Sons, New York.

Ross, S., Sawin, P.B., Zarrow, M.X., y Denenberg, V.H. Maternal behavior in the rabbit. In: Rheingold, H. (De.). Maternal behavior in mammals. pp 94-121, New York, 1963.

Russel, L.C. y Burchiel, K.J. Neurophysiological effects of capsaicin. Brain Res. Rev. 8:165-176, 1984

Sachs, B.D. The development of grooming and its expression in adult mammals. En: Neural mechanism and biological significance of grooming behavior. (Colbern, D. y Gispen, G. Eds.) Annals of the New York Academy of Science. 25:363-376, 1988.

Salas, M., Torrero, C y Regalado, M. Desnutrición y desarrollo conductual en la rata. En Velázquez, J. (Ed.). Temas Selectos de Neurociencias, Universidad Autónoma Metropolitana, México. pp 459-473. 1995.

Salas, M., Pulido, S., Torrero, C. y Escobar, C. Neonatal undernutrition and self-grooming development in the rat: long-term effects. Physiol. Behav., 50:567-572, 1991.

Salas, M., Torrero, C. y Pulido, C. Long-term alterations in the maternal behavior of neonatally undernourished rats. Physiol. Behav., 33:273-278, 1984.

Salas, M., Torrero, C. y Pulido, S. 1986. Undernutrition induced by pup separation delays the development of the reticular thalamic nucleus in rats. Exper. Neurol., 93:447-455.

Salas, M. 1996. Factores perinatales que contribuyen al desarrollo cerebral. Tesis de Doctorado. Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. México, 1996.

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

Salas, M. y Cintra, L. Nutritional influences upon somatosensory evoked responses during development in the rat. *Physiol. Behav.*, 10:1019-1022, 1973.

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

Salas, M. Effects of early malnutrition on dendritic spines of cortical pyramidal cells in the rat. *Dev. Neurosc.*, 3:109-117, 1980.

Salas, M. 1972. Effects of early malnutrition on the developmental of swimming ability in the rat. *Physiol. Behav.*, 8:199-122.

Salas, M., Pulido, S., Torrero, C. y Escobar, C. 1991. Neonatal undernutrition and self-grooming development in the rat: long-term effects. *Physiol. Behav.* 50:567-572

Salas, M., Torrero, C. y Pulido, S. 1984. Long-term alterations in the maternal behavior of neonatally undernourished rats. *Physiol. Behav.*, 33:273-278.

Salas, M. y Cintra, L. Undernutrition and novelty responses. Influence of early food restriction on the responsiveness to novel stimuli in adult rats. *Bol. Estud. med. Biol. Méx.* 30:210-204, 1979.

Salas, M. y Cintra, L. Undernutrition and novelty responses . Influence of early food restriction on the responsiveness to novel stimuli in adult rats. *Estud. Méd. Biol. Méx.*, 30:201-204, 1979.

Salm, A. k., Kohn, B.K. and Hatton, G. I. 1985. Pup-induced maternal behavior is accompanied by ultrastructural changes in the supraoptic nucleus of rats. 15th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Dallas, TX (Abstract 180.3).

Santicioli, P., Maggi, C.A. y Meli, A. The effect of capsaicin pretreatment on the cystometrograms of urethane anesthetized rats. *J. Urol.* 133:700-703, 1985.

Santucci, L., Duad, M., Almeida, S y De Oliveira, L. Effects of early protein malnutrition and environmental stimulation upon the reactivity to diazepam in two animal models of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 49:393-398, 1994.

Sanyal, M. Secretion of progesterone during gestation in the rat. *J. Endocrinol.*, 79:179-190, 1978.

Saumet, J.L. y Duclaux, R. Analgesia induced by neonatal capsaicin treatment in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16:241-243, 1982.

Scadding, J. W. 1980. The permanent anatomical effects of neonatal capsaicin on somatosensory nerves. *J. Anat.* 131:473-484.

Seidler, F.J. Bell, J.M. y Slotnick, T.A. Undernutrition and overnutrition in the neonatal rat: long-term effects on noradrenergic pathways in brain regions. *Pediatr. Res.* 27:191-197, 1990.

Shaik, A. Estrone and estradiol levels in the ovarian venous blood from rats during the estrous cycle and pregnancy. *Biol. Reprod.*, 5:297-301, 1971.

Sharkey, K.A., Williams, R.G., Schultzberg, M. y Dockray, G.J. Sensory substance P innervation of the urinary bladder: possible site of action of capsaicin in causing urine retention in rats. *Neuroscience*, 10:861-866, 1993.

Sharma, S.K. Nayar, U., Maheshwari, M.C. y Singh, B. Effect of undernutrition on developing rat cerebellum: Some electrophysiological and neuromorphological correlates. *J. Neurol. Sci.* 78:261-272, 1987.

Siegel, H. y Rosenblatt, J. Hormonal basis of hysterectomy-induced maternal behavior during pregnancy in the rat. *Horm. Behav.*, 6:211-222, 1975.

Siegel, H. y Roseblatt, J. Duration of oestrogen stimulation and progesterone inhibition of maternal behavior in pregnancy-terminated rats. *Horm. Behav.*, 11:12-19, 1978.

Silver, W., Farley, L. y Finger, T. The effects of neonatal capsaicin administration on trigeminal nerve chemoreceptors in the rat nasal cavity. *Brain Res.*, 561:212-216, 1991.

Silver, W.L., Mason, J.R., Marshall, D.A. y Maruniack, J.A. Rat trigeminal, olfactory and taste response after capsaicin desensitization. *Brain Res.*, 333:45-54, 1985.

Slotnick, B. M. Carpenter, M. L and Fusco, R. Initiation of maternal behavior in pregnant nulliparous rats. *Horm. Behav.*, 4:53-59, 1973.

Smart, J.L. y Preece, J. Maternal behaviour of undernourished mother rats. *Anim. Behav.*, 21:613-619, 1973.

Smart, J.L. Maternal behaviour of undernourished mother rats towards well fed and underfed young. *Physiol. Behav.*, 16: 147-149, 1976.

Smart, J.L. Undernutrition, maternal behavior and pup development. En: Elwood, R.W. (De.). *Parental behaviour of rodents*. New York. John Wiley and Sons. pp 205-234, 1983.

Smith, C.L. Maternal behavior in the undernourished rat. *Physiol. Behav.* :667-680, 1976

Stern, M.C., Miller, C.M. Forbes, W.B., Morgane, P.J. y Resnick, O. Ontogeny of the levels of biogenic amines in various parts of the brain and in peripheral tissues in normal and protein malnourished rats. *Expl. Neurol.* 49: 314-326, 1975.

Szolcsányi, J., Joo, F. y Jancsó-Gabor, A. Mitochondrial changes in preoptic neurones after capsaicin desensitization of the hypothalamus thermoreceptors in rats. *Nature*, 229:116-117, 1971.

Szolcsányi, J. y Jancsó-Gabor, A. Sensory effects of capsaicin congeners. I. Relationships between chemical structure and pain-producing potency of pungent agents. *Drug Res.*, 25:1877-1887, 1995.

Szolcsányi, J. Actions of capsaicin on sensory receptor. En: *Capsaicin in the Study of Pain*. (Wood, J. De.) pp:1-26. Academic Press. New York, 1993.

Szolcsányi, J. 1982. Capsaicin type pungent agents producing pyrexia. En: *Pyrexia and antipyrexia, handbook of experimental pharmacology*, (Milton, A. S. De.). Vol. 80: 437-478, Springer, Berlin.

Szolcsányi, J. 1990. Capsaicin irritation and desensitization. Neurophysiological basis and future perspectives. En: *Irritation, chemical senses*, (Green, B. G.; Mason, J. R. y Kare, M. R. Eds.). Vol. 2, pp 141-168. Marcel Dekker, New York.

Tanaka, H., Kanosue, T., Nakayama, T. y Shen, Z. Grooming, body extension, and vasomotor responses induced by hypothalamic warming at different body temperatures. *Physiol. Behav.* 38:145-151, 1986.

Terkel, J., and Rosenblatt, J. S. 1971. Aspects of nonhormonal maternal behavior in the rat. *Horm. Behav.*, 2:161-171.

Terkel, J. Bridges, R. y Sawyer, H. Effects of transecting lateral neural connections of the medial preoptic area on

maternal behavior in the rat: nest building, pup retrieval and prolactin secretion. *Brain Res.*, 169:369-380, 1979.

Terkel, J. y Rosenblatt, J. Maternal behavior induced by maternal blood plasma injected into virgin rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 65:479-482, 1968.

Terkel, J. y Rosenblatt, J. Humoral factors underlying maternal behavior at parturition. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 80:365-371, 1972.

Traurig, H., Papka, R.E., Saria, A. y Lembeck, F. Substance P immunoreactivity in the rat mammary nipple and the effects of capsaicin treatment on lactation. *Naunyn-Schiemedebergs Arch. Pharmacol.*, 328:1-8, 1984.

Traurig, H., Saria, A. y Lembeck, F. The effects of neonatal capsaicin treatment on growth and subsequent reproductive function in the rat. *Naunyn-Schiemedebergs Arch. Pharmacol.*, 327:254-259, 1984.

Traurig, H., Cotton, J., Papka, R., Saria, A. y Lembeck, F. Substance P in the female reproductive system and the effects of capsaicin. *Neurosci. Abs.* 9:111, 1983.

Turkewitz, G. 1975. Learning in chronic protein-deprived rats. In: *Nutrition and Mental Functions*, (G. Servan, De.), pp. 113-120. Plenum Press. New York.

Urbán, L.; Willetts, J.; Randic, M. y Papka, R. E. 1985. The acute and chronic effects of capsaicin on slow excitatory transmission in rat dorsal horn. *Brain Res.* 330:390-396.

Wang, Z y De Vries, G. Testosterone effects on paternal behavior and vasopressin immunoreactive projections in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Brain Res.*, 631:156-160, 1993.

Wang, Z., Ferris, C y De Vries, G. Role of septal vasopressin in paternal behavior in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Proceed. Nat. Acad. Sciences*, 91:400-404, 1994.

Whipple, B., Martínez-Gómez, M., Oliva, L., Pacheco, P. y Komisaruk, B. Inverse relationship between intensity of vaginal self-stimulation-produced analgesia and level of chronic intake of a dietary source of capsaicin. *Physiol. Behav.*, 46:247-252, 1989.

Watson, T.S., Smart, J.L., and Dobbing, J. Undernutrition in early life: lasting effects on activity and social behavior of male and female rats. *Devl Psychobiol.*, 9:529-538, 1976.

Welk, E.; Fleischer, E.; Petsche, U. y Handwerker, H. O. Afferents C-fibers in rats after neonatal capsaicin treatment. Pflügers Arch. 400:66-71, 1984.

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

Wiener, s.g., Fitzpatrick, K.M., Levin, R., Smotherman, w.P. y Levin, S. Alterations in the maternal behavior of rats rearing malnourished offspring. Dev. Psychobiol. 10:243-254, 1977.

Wiesner, B. P. and N. M Sheard. Maternal Behavior in the Rat. Edinburgh: Oliver & Boyd, 1933.

Wiggings, R.C., Miller, S.L., Bejamins, J.A., Krigman, M.R. y Morell, P. Myelin synthesis during postnatal nutrition deprivation and subsequent rehabilitation. Brain Res. 107:257-273, 1976.

Winick, M. Malnutrition and mental development. En : M. Winick (ED.). Nutrition pre and postnatal development. Plenum Press, New York, London. pp. 41-59, 1977.

Winick, M y Rosso, P. Malnutrition and central nervous system development. En Brain Function and Malnutrition. Prescott, J.W., Read, M.S. y Coursin, D.B. (Eds). John Wiley and Sons, New York. pp 41-52, 1975.

Woodside, B. y Leon, M. Thermoendocrine influences on maternal nesting behavior in rats. J. Comp. Physiol. Psychol. 94:41-60, 1980.

Zarrow, M. X., gandelman, R., and Denenberg, V. H. Prolactin: Is it an essential hormone for maternal behavior in the mammal? Horm. Behav., 2:343-354, 1971.

Zarrow. M.X., Farooq, A. y Denenberg, V. Maternal behavior in the rabbit: Critical period for nestbuilding following castration during pregnancy. Proc. of the Soc. for Exp. med. and Biol., 111:537-538, 1962.



0891-3057(93)E0061-B

Neonatal Capsaicin Administration: Effects on Behavioral Development of the Rat

PORFIRIO CARRILLO,* JORGE MANZO,* MARGARITA MARTINEZ-GOMEZ,†
MANUEL SALAS‡ AND PABLO PACHECO*†‡¹**Instituto de Neurociología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Ver., 91000, México**†Centro de Investigaciones Fisiológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Tlax., 90000, México**‡Departamento de Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas,
Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 04510, México*

Received 26 May 1993

CARRILLO, P., J. MANZO, M. MARTINEZ-GOMEZ, M. SALAS AND P. PACHECO. Neonatal capsaicin administration: Effects on behavioral development of the rat. PHARMACOL BIOCHEM BEHAV 48(2) 447-452, 1994. — The effect of a single dose of capsaicin administered neonatally on the development of six motor behavioral patterns (scratching, rearing, grooming, searching, remaining still, and sniffing) was examined in Wistar rats. Treated animals exhibited a significant increment in scratching, rearing, grooming, and searching. Capsaicin also provoked precocious eye opening of one to two days and a reduction in remaining still, sniffing, and body weight. These effects were accompanied by palpebral dishevelment and presence of skin ulcers in the region of the head, neck, and shoulders. The distribution of skin ulcers suggests that the fifth cranial nerve and roots innervating C1-C3 spinal cord segments contain a high proportion of capsaicin-sensitive C⁺ and A δ fibers.

Neonatal capsaicin Behavioral development Scratching C fibers A δ fibers Eye opening

EVIDENCE is accumulating that transplacental passage (15,21) or continuous exposure to various components of the maternal diet can be associated with long-lasting brain deficiency (34). After birth, abnormal levels of circulating hormones (6,10,30), exposure to industrial solvents (16,37), poisons and drugs (14,32), and malnutrition (22,29), to name but a few, also represent noxious factors that may result in altered brain development.

Neonatal administration of capsaicin provokes irreversible neurotoxic effects (15), reported as a significant loss of unmyelinated C⁺ and myelinated A δ fibers (23). Additionally, it has been found that the injury of primary sensory neurons produces alterations in chemogenic pain transmission (1,20,33); reduction in the response to noxious thermal, mechanical, and chemical stimuli; and substance P depletion in dorsal root ganglia (12,13).

In spite of the widespread use of capsaicin as a neuroanatomical (17), functional (28), and even therapeutic probe (2), there is a lack of information concerning its short- and long-term effects upon behavioral development. Thus, the present study was designed to examine the effect of SC neonatal cap-

saicin administration on the development of six behavioral motor patterns in the rat. A longitudinal analysis of these patterns in both sham-injected and neonatally capsaicin-treated animals was performed.

METHODS

Animals

A group of 32 adult virgin female Wistar rats (*Rattus norvegicus*) was selectively mated so as to produce eight consecutive parturitions per day over a four-day period. Prior to parturition and throughout lactation the dams were housed individually in Plexiglas maternity cages (50 × 40 × 20 cm) containing nesting material (wood shavings). Cages were kept in a colony room at 22-24°C, 50% humidity, and a 12-h illumination cycle (light on 0700). Food (Purina chow) and water were available ad lib. At birth (day 0), 22 pups of both sexes were randomly allocated to capsaicin treatment in a group with three dams, so as to form two litters of 7 pups and one of 8 (n = 22). The control group comprised three litters of 7 pups and one of 8 (n = 29). This distribution ensured

¹ Requests for reprints should be addressed to Pablo Pacheco, M.D., Departamento de Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, Apartado Postal 70228, México, D.F. 04510, México.

that possible genetic and prenatal biological differences were balanced between litters. In all cases the pups were weaned at day 21 of age and given free access to food and water.

Capsaicin (8-methyl-*N*-vanillyl-6-nonenamide) (Sigma, St. Louis) dissolved in an emulsion with 10% ethanol, 10% Tween 80, and 80% saline (0.9%) was SC injected in a single dose of 50 mg/kg on day 2 of life. The dose was contained in a 0.01-ml volume. Controls were injected SC with a similar volume of emulsion without capsaicin.

Behavioral Testing

Behavioral observations were performed using plastic translucent cages (50 × 40 × 20 cm) during the dark phase of the cycle (10–14 h) and under red light. The time-sampling technique previously described and validated by Gispen et al. (9) was used. Thus, behavioral measurements from a randomly selected pup started 30 s after its placement into the cage. Four animals were tested simultaneously. During a 30-min observation period the frequency of the following six motor patterns was recorded every 15 s: digging, including moving wood shavings with snout or legs; grooming, involving forepaw vibration, face washing, body or genital licking, or tail preening; rearing, with the rat standing on its hindlegs; scratching, including the body and head skin using ipsilateral fast or slow hindleg movements; searching, comprising horizontal ambulatory activity; remaining still, including lying on the floor in a nonexploratory attitude; and sniffing, consisting of movement of the head and nostrils directed towards the surroundings.

Occurrence of each behavior was scored as 1 point and the total observation period was 30 min. Rats of the control ($n = 29$) and experimental ($n = 22$) groups were tested on days 3, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 35, 40, 50, 60, 70, 80, and 90 postnatally.

All subjects were checked for eye opening, and since capsaicin treatment may interfere with weight gain, daily body weight measurements were also obtained. A previously described test (33) was performed to assess the neurotoxic effectiveness of the capsaicin treatment. Thus, at day 95 of age control and experimental animals were exposed to a drop of

1% solution of capsaicin deposited in the right eye. The frequency of the eye-wiping response was scored for 30 s.

Statistical Analysis

The differences in the scores obtained for all behavioral patterns were compared using a multivariate analysis with repeated measurements (36). In addition, differences in the scores for each of the behavioral patterns were compared in a 2 (Treatments) × 14 (Days) analysis of variance (ANOVA) with repeated measures, and post hoc Newman-Keuls tests were conducted when pertinent for testing significant differences between groups. Body weight differences between groups were compared using an ANOVA. A probability value of 0.05 or less for all statistical analyses was considered significant unless otherwise stated.

RESULTS

The ANOVA performed on the weight measurements yielded significant differences between control and capsaicin-treated groups, $F(1, 703) = 13.083$, $p < 0.0001$. The ANOVA over days revealed that the body weight of capsaicin-treated subjects was only significantly lower than those of the controls on days 35, 40, and 70, resulting in $F(1, 50) = 16.394$, $p < 0.001$; $F(1, 48) = 13.794$, $p < 0.001$; and $F(1, 48) = 5.037$, $p < 0.05$, respectively (Fig. 1). Capsaicin subjects also presented alteration in the development and care of the body pelage. Signs of disheveled fur, dirty skin, and sparse hair implantation and the appearance of several ulcers in the region of the head, neck, and shoulders were observed, starting at approximately 19 days of age. When compared to the controls (mean \pm SE: 15.18 ± 0.73), capsaicin-treated pups also showed precocious eye opening of one to two days (13.79 ± 1.11).

Analysis of the mean digging scores of capsaicin-treated and control rats did not reveal significant differences (not shown here). However, a significant capsaicin Treatment × Days interaction, $F(13, 703) = 1.890$, $p < 0.05$, was observed. Until postnatal day 35 both experimental and control groups did not exhibit significant differences in grooming

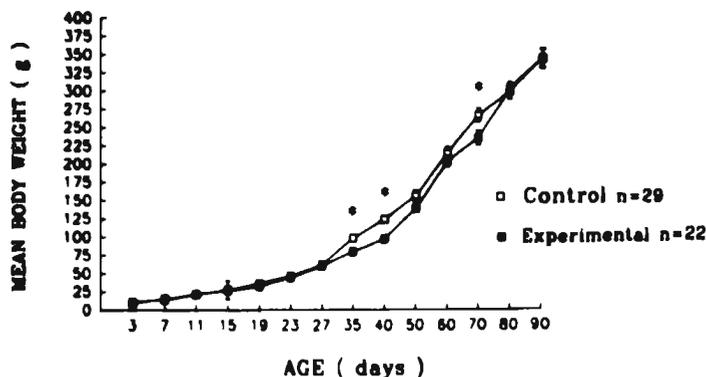


FIG. 1. Mean body weight measurements in control and neonatal capsaicin-treated rats during development. Before postnatal day 27 control and experimental rats followed a similar pattern of weight gain. Thereafter the body weight of experimental rats was only significantly reduced on days 35, 40, and 70 postnatally. Asterisks indicate days on which differences between groups were statistically significant.

(Fig. 2A). Grooming follows a progressive increment initiating with erratic face-washing followed by forepaw, fur, and genital licking (26,29). From postnatal day 40 capsaicin-treated rats increased their grooming values, although significant differences were only observed on days 50 and 80 postnatally (Fig. 2A). The ANOVA indicates a significant increment of grooming in the capsaicin-treated group, $F(1, 702) = 6.837$, $p < 0.05$, and a significant capsaicin Treatment \times Days interaction, $F(13, 703) = 1.980$, $p < 0.05$. Rearing of experimental and control groups was sparing until 11 days of age. Afterwards, it gradually increased in values, with the capsaicin-treated subjects showing increased significant rearing in most of the ages (Fig. 2B). Analysis of the mean rearing scores revealed a significant increment in capsaicin-treated rats, $F(1, 702) = 26.193$, $p < 0.0001$, and a significant capsaicin Treatment \times Days interaction, $F(13, 703) = 1.803$, $p < 0.05$. Scratching in both experimental groups was rarely seen before the first three days of age. Thereafter, a consistent significant increase in the scratching of capsaicin-treated rats, $F(1, 702) = 87.707$, $p < 0.05$, indicated that these animals spent more time in this activity than in others studied here (Fig. 2C). Moreover, the capsaicin Treatment \times Days interaction was highly significant, $F(13, 703) = 3.680$, $p < 0.0001$. Searching was poorly developed during the first week of age in either group, followed by a progressive increment until day 15 post-

natally, and their values were reduced for the rest of the experiment (Fig. 2D). In capsaicin-treated rats searching scores had a tendency to maintain higher values compared to controls. However, the statistical comparisons indicated that capsaicin-treated animals exhibited higher significant values when compared to controls, $F(1, 702) = 6.629$, $p < 0.05$. Moreover, the capsaicin Treatment \times Days interaction was also significant, $F(13, 703) = 2.662$, $p < 0.0001$.

During the first week of age in both groups of rats scanty sniffing movements were detected. Afterwards, an abrupt increase followed by a plateau of sniffing scores was observed (Fig. 3A). The mean frequency analysis of sniffing revealed a reduction in the capsaicin-treated group, $F(1, 702) = 4.516$, $p < 0.05$. No significant interaction was found. Remaining-still measurements showed a progressive declining in their values throughout the experimental period. In most of the ages the scores of the capsaicin-treated rats had a tendency or were significantly reduced compared to controls (Fig. 3B), $F(1, 702) = 19.513$, $p < 0.0001$. Additionally, a significant capsaicin Treatment \times Days interaction was also detected, $F(13, 703) = 1.906$, $p < 0.05$.

The multivariate statistical analysis of the six behavioral measurements and ages revealed that the experimental group was significantly different from the controls (Wilks lambda = 0.804 and $F = 24.057$, $p < 0.0001$). However, this analy-

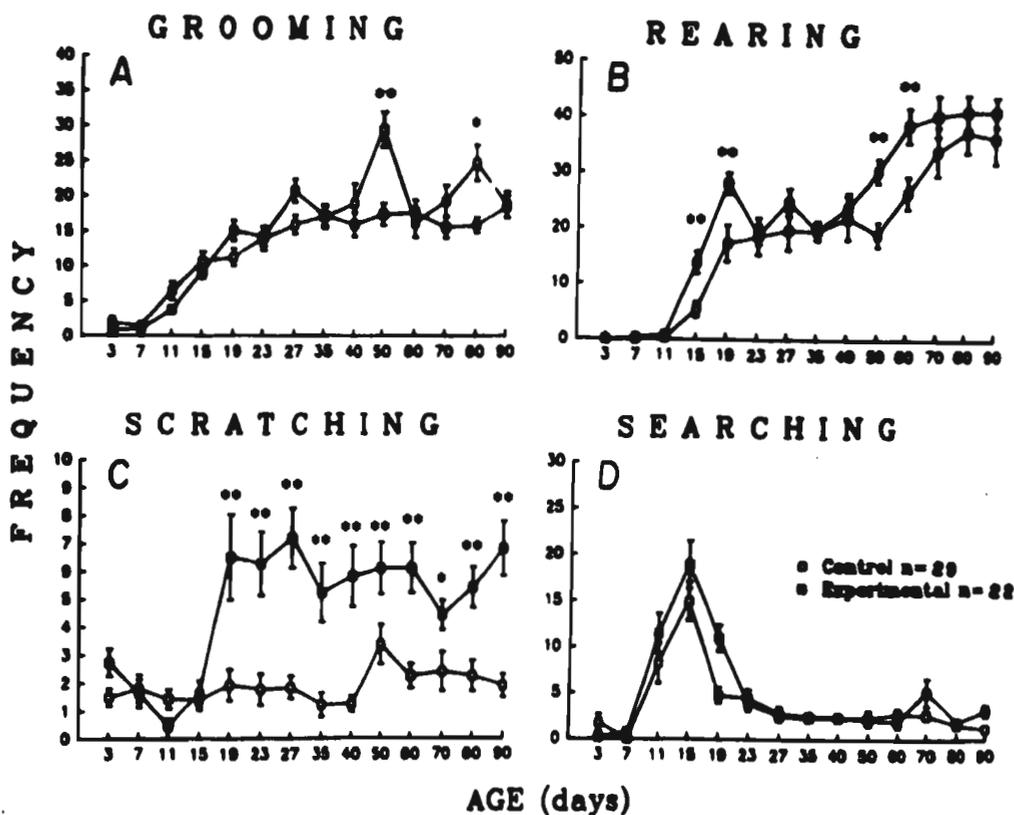


FIG. 2. Temporal sequence of behavioral maturation in control (□) and capsaicin-treated rats (■). Note the progressive increment in frequency of the various behavioral patterns and how grooming, scratching, and rearing after 15 days of age in capsaicin-treated subjects significantly increase their values (asterisks).

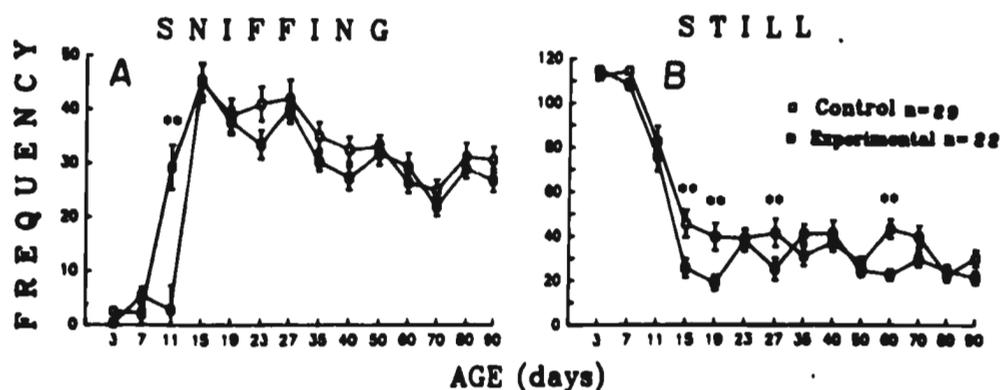


FIG. 3. Temporal sequence of sniffing and remaining-still maturation in control (□) and capsaicin-treated rats (■). Both behavioral patterns had a tendency to be lower or were significantly reduced (asterisks) in their frequency with increasing age.

sis did not provide information as to which of the six individual variables contributed more to the group difference, nor did it show which behavioral pattern in the capsaicin-treated rats was greater for any measure.

The canonical discriminant analysis resulted in significant differences between the experimental and control treatments ($p < 0.0001$). This analysis showed that scratching, rearing, grooming, and remaining still, which had a standardized coefficient greater than 0.3, contributed more to the behavioral differences seen between groups (Table 1).

Capsaicin-treated rats did not exhibit increased values for protective wiping movements in response to capsaicin applied to the eye (mean \pm SE: 3.34 ± 0.6) compared to controls (29.0 ± 1.09).

DISCUSSION

The neonatally administered SC single dose of capsaicin used here was associated with a variety of effects, some of them already described, but others not. A large body of data regarding neurotoxic effects of capsaicin on C and A δ fibers (1,13) has been widely correlated with chemogenic pain (20,33) and altered thermal, mechanical, and chemical transmission (11-13,24). However, little is known about its effect upon behavioral development (1,3).

In the present study capsaicin exposure resulted in a reduc-

tion of protective wiping movements in response to the application of a solution of capsaicin to the eye, indicating its neurotoxic effectiveness (33).

Alteration in the development of various behavioral motor patterns was one of the more striking effects observed in the present study. An increase in the frequency of scratching, rearing, grooming, and searching together with a significant reduction in remaining still and sniffing was observed during the development of capsaicin-treated pups. Recently, we proposed that C and/or A δ fibers participate in an inhibitory feedback mechanism regulating motoneuronal activity during scratching (19). These fibers can activate modulatory circuits that modify the nociceptive transmission produced by scratching. This modulatory effect was revealed when, in absence of C and/or A δ fibers, itching that provokes scratching produced a significantly larger or more frequent response than that expected in the presence of modulation. If so, this can be the cause of the scratching increment in the desensitized capsaicin rats.

Another interesting point derived from the present study concerns the C and A δ fiber innervation of the cephalic extremity versus the innervation of the rest of the body. The presence of skin ulcers, which has been reported in other studies (18), was analyzed here and a regional distribution was clearly observed by the end of the third postnatal week. Head, neck, and shoulders innervated by the fifth and C1-C3 spinal nerves were the areas principally affected, and ulcers in other body areas were not observed. Skin ulcers may result as a consequence of a trophic effect (4,18), altered skin sensitivity (27), or excess of scratching and/or increased grooming (see Fig. 2A). Scratching achieves adult characteristics by the end of the third postnatal week (26,29). This probably determines the time for the development of the skin lesions in capsaicin-treated pups.

Before postnatal day 27 control and experimental rats followed a similar pattern of weight gain (Fig. 1). Thereafter, the weights of capsaicin-treated animals were lower. These findings are in line with previous data in neonatally capsaicin-treated rats (8,35), although the mechanisms underlying this effect are still under investigation.

The neonatal pup typically relies on sensory modalities such as olfaction for nipple attachment and touch for main-

TABLE I
CANONICAL DISCRIMINANT ANALYSIS:
BEHAVIORAL MOTOR PATTERNS WITH
STANDARDIZED COEFFICIENTS

Canonical Factors	Standardized Coefficients
Scratching	0.795
Rearing	0.448
Grooming	-0.320
Still	-0.309
Sniffing	-0.258
Searching	0.158
Digging	0.062

taining contact with the dam. Our findings showed a precocious eye opening in capsaicin-treated rats for which at present we do not have a satisfactory explanation. However, it might be taken into consideration that this phenomenon is concurrent with an impoverishment in olfactory (25), tactile (7,11,27), trigeminal (5,31), and visual (1) sensory avenues and altered scratching, rearing, searching, and sniffing motor behaviors. If the precocious eye opening is a functional adaptation or a compensatory effect in response to an unbalanced sensory maturation, it requires further experimental analysis. These alterations in the behavioral maturation may be critical for the development of adaptive behaviors in response to the environmental demands.

Finally, present data suggest that the use of neonatal capsaicin may be helpful in investigating the paramount role of the C and A δ fibers upon the cephalic extremity in initiating feeding, exploration of the environment, mother recognition, gaining experience, neuronal growth, and the acquisition of new cognitive processes.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was partly supported by SEP-DGICSA 911231 (to M.S.) and CONACYT D111-903850 (to J.M.). We thank L. Cornejo for collecting data, Dra. C. Escobar for statistical advice, and Dra. R. Hudson and I. Pérez-Monfort for editorial assistance.

REFERENCES

- Buck, S. H.; Burks, T. F. The neuropharmacology of capsaicin: Review of some recent observations. *Pharmacol. Rev.* 38:179-226; 1986.
- Chad, D. A.; Aronin, N.; Lundstrom, R.; McKeon, P.; Ross, D.; Molitch, M.; Schipper, H. M.; Stall, G.; Dyes, E.; Tarry, D. Does capsaicin relieve the pain of diabetic neuropathy? *Pain* 42:387-388; 1990.
- Cormarache-Leyder, M.; Vernet-Maury, E. The effects of capsaicin on emotional responses to odors in the rat. *Physiol. Behav.* 46:679-684; 1989.
- Couture, R.; Cuello, C. Studies on the trigeminal antidromic vasodilatation and plasma extravasation in the rat. *J. Physiol.* 346:273-285; 1984.
- Del Fiocco, M.; Cuello, C. Substance P- and enkephalin-containing neurons in the rat trigeminal system. *Neuroscience* 5:803-815; 1988.
- Bayra, J. T.; Taylor, S. H. The effect of thyroid deficiency induced by methylthiouracil on the maturation of the central nervous system. *J. Anat.* 85:350-358; 1951.
- Gense, R. Capsaicin and nociception in the rat and mouse. Possible role of substance P. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 320:205-216; 1988.
- Gense, R.; Lesman, S. E.; Holzer, P.; Lambeck, F. Differential effects of capsaicin on the content of somatostatin, substance P and neurotensin in the nervous system of the rat. *Arch. Pharmacol.* 317:140-148; 1981.
- Olssen, W. H.; Colburn, D. L.; Spruijt, B. M. Molecular transduction mechanism in ACTH-induced grooming. *Psychopharmacol. Ser.* 4:213-231; 1988.
- Hamburgh, M.; Mendoza, L. A.; Bennett, I.; Krupa, P.; So Kim, Y.; Kahn, R.; Hogreff, K.; Frankfort, H. Some unresolved questions of brain-thyroid relationships. In: Grave, G. D., ed. *Thyroid hormones and brain development*. New York: Raven; 1977: 49-72.
- Hayes, A. G.; Tyers, M. B. Effects of capsaicin on nociceptive heat, pressure and chemical thresholds and on substance P levels in the rat. *Brain Res.* 189:561-564; 1980.
- Holzer, P. Local effector function of capsaicin-sensitive sensory nerve endings, involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience* 24:739-768; 1988.
- Jancsó, G.; Király, E.; Jancsó-Gabor, A. Pharmacologically induced selective degeneration of chemosensitive primary sensory neurons. *Nature* 270:741-743; 1977.
- Jones, K. L.; Smith, D. W.; Uleland, C. N.; Streissguth, A. P. Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *Lancet* i:1267-1271; 1973.
- Kirby, M. L.; Gale, T. F.; Mattio, T. G. Effects of prenatal capsaicin treatment on fetal spontaneous activity, opiate receptor binding, and acid phosphatase in the spinal cord. *Exp. Neurol.* 76:298-308; 1982.
- Loreazana-Jiménez, M.; Salas, M. Behavioral effects of chronic toluene exposure in the developing rat. *Neurotoxicol. Teratol.* 12: 353-357; 1990.
- Maggi, C. A. Capsaicin-sensitive nerves in the gastrointestinal tract. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 303:157-166; 1990.
- Maggi, C. A.; Borsini, F.; Santicoli, P.; Coppoti, P.; Abelli, L.; Evangelista, S.; Maazini, S.; Theodorsson-Norheim, E.; Somma, V.; Amenta, F.; Bacciarelli, C.; Meli, A. Cutaneous lesions in capsaicin-pretreated rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 336:538-543; 1987.
- Manzo, J.; Carrillo, P.; Cornejo, L.; Salas, M.; Pacheco, P. Behavioral development of intact and neonatal capsaicin treated rats. *Abstracts* 17:1459; 1991.
- Marlier, L.; Rajnofetra, N.; Poulat, P.; Privat, A. Modification of serotonergic innervation of the rat spinal cord dorsal horn after neonatal capsaicin treatment. *J. Neurosci. Res.* 25:112-118; 1990.
- Mirkia, B. L. Drug distribution in pregnancy. In: Borús, L. O., ed. *Fetal pharmacology*. New York: Raven; 1973:1-27.
- Morgane, P. J.; Austin-LaFrance, R. J.; Brozino, J. D.; Tonkins, J.; Geller, J. R. Malnutrition and the developing central nervous system. In: Isaacson, R. L.; Jenam, K. F., eds. *The vulnerable brain and environmental risks*, vol. 1. New York: Plenum Press; 1992:3-44.
- Nagy, J. I.; Iversen, L. L.; Goedart, M.; Chapman, D.; Hunt, S. P. Dose-dependent effects of capsaicin on primary sensory neurons in the neonatal rat. *J. Neurosci.* 3:399-406; 1983.
- Nagy, J. I.; vander Kooy, D. Effects of neonatal capsaicin treatment on nociceptive thresholds in the rat. *J. Neurosci.* 3:1145-1150; 1983.
- Perez, H.; Ruiz, S.; Inostroza, H.; Paretta, M. Neonatal capsaicin treatment impairs functional properties of primary olfactory afferents in the rat. *Neurosci. Lett.* 127:251-254; 1991.
- Richmond, G.; Sachs, B. D. Grooming in Norway rats: The development and adult expression of a complex motor pattern. *Behaviour* 75:82-93; 1980.
- Rodriguez-Sierra, D. F.; Skofitsch, O.; Komisaruk, B. R.; Jacobowitz, A. M. Abolition of vagino-cervical stimulation-induced analgesia by capsaicin administered to neonatal, but not adult rats. *Physiol. Behav.* 44:267-272; 1988.
- Rossa, Z.; Mattila, J.; Jacobson, E. D. Substance P mediates a gastrointestinal thermoreflex in rats. *Gastroenterology* 95:263-276; 1988.
- Salas, M.; Pulido, S.; Torrero, C.; Escobar, C. Neonatal under-nutrition and self-grooming development in the rat: Long-term effects. *Physiol. Behav.* 50:567-572; 1991.
- Schapiro, S. Hormonal and environmental influences on rat brain development and behavior. In: Sterman, B. M.; McGinty, D. J.; Adinolfi, A., eds. *Brain development and behavior*. New York: Academic Press; 1971:307-334.
- Silver, W. L.; Larley, L. G.; Finger, T. E. The effects of neonatal capsaicin administration on trigeminal nerve chemoreceptors in the rat nasal cavity. *Brain Res.* 561:212-216; 1991.

32. Sobotta, T. J.; Cook, M. P.; Brodie, R. E. Effects of perinatal exposure to methylmercury on functional brain development and neurochemistry. *Biol. Psychiatr.* 8:307-320; 1974.
33. Saiczányi, J.; Jancsó-Gábor, A.; Joo, F. Functional and fine structural characteristics of the sensory neuroblocking effect of capsaicin. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 289:157-169; 1975.
34. Tominak, R. L.; Spyker, D. A. Capsicum and capsaicin—A review: Case report of the use of hot peppers in child abuse. *Clin. Toxicol.* 25:591-601; 1987.
35. Treurig, H.; Sarin, A.; Lambek, F. The effects of neonatal capsaicin treatment on growth and subsequent reproductive function in the rat. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 327:254-259; 1984.
36. Winer, B. J. *Statistical principles in experimental design*. New York: McGraw-Hill; 1971.
37. Yamawaki, S.; Segawa, T.; Sarai, K. Effects of acute and chronic tobacco inhalations on behavior and (³H) serotonin binding in rat. *Life Sci.* 30:1997-2002; 1982.



Cutaneous Wounds Produced by Capsaicin Treatment of Newborn Rats Are Due to Trophic Disturbances

PORFIRIO CARRILLO,* MIGUEL CAMACHO,* JORGE MANZO,*
MARGARITA MARTINEZ-GOMEZ,† MANUEL SALAS‡ AND PABLO PACHECO§

*Laboratorio de Neurobiología del Desarrollo, Instituto de Neuroetología,
Universidad Veracruzana, Xalapa, Ver., 91000, México

†Centro de Investigaciones Fisiológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Tlax., México

‡Centro de Neurobiología and §Departamento de Fisiología del Instituto de Investigaciones Biomédicas,
Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 04510, México

Received 29 October 1996; Accepted 30 June 1997

CARRILLO, P., M. CAMACHO, J. MANZO, M. MARTINEZ-GOMEZ, M. SALAS AND P. PACHECO. *Cutaneous wounds produced by capsaicin treatment of newborn rats are due to trophic disturbances.* NEUROTOXICOL TERATOL 20(1) 000-000, 1997.—The purpose of this study was to show that the occurrence of skin ulcers observed in animals neonatally treated with the neurotoxin capsaicin coincide with trophic disturbances. In addition, cutaneous lesions increased when self-grooming and scratching behaviors reached maturity. The temporal course of cephalic cutaneous wounds in neonatally capsaicin-treated rats was evaluated in animals wearing and not wearing plastic collars from postnatal day (P) 21 until P45. The collars were used to prevent self-grooming and scratching. Beginning on P21, capsaicin-treated rats under both conditions showed transient skin ulcers distributed throughout the head and neck regions. In the capsaicin-treated group without collars, lesions reached their greatest severity by P40, when self-grooming and scratching behaviors obtained adult characteristics. Furthermore, no lesions were detected after 25 days. In the capsaicin-treated rats that wore plastic collars, the widest distribution of skin lesions occurred on P55, after which time lesions vanished detection by 25 days. In this latter group, the cutaneous lesions were exacerbated when collars were removed. Data suggest that transient cutaneous wounds associated with neonatal capsaicin administration may be mediated via capsaicin-sensitive sensory neurons that are involved in trophic and regenerating neural mechanisms. © 1997 Elsevier Science Inc.

Capsaicin Neonatal treatment Skin ulcers Rat

SEVERAL studies have shown that Capsaicin (Cap) provokes severe neurotoxic effects on dark B-type primary afferent neurons and their prolongations. These neurons with unmyelinated C or A-δ myelinated small fibers are excited, desensitized, or even destroyed by Cap. This results in impaired chemnociceptive and thermal neurotransmission (4,20,22,44). The neural impairment of different brain structures (29,37,38) is most prominent with regard to acute and long-term electrophysiological (15,18,34), biochemical (18), and behavioral (6,12,29) alterations when a systemically single dose of 50 mg/kg of Cap is given on postnatal day 2 (P2) (4,22,28,44).

Previous data (4,6,25) showed that capsaicin-desensitized animals (rats and guinea pigs) exhibited consistent cutaneous

head wounds around P25 (6,25). Because it is not known if cutaneous head wounds resulted from a trophic dysfunction or from increased self-scratching, the present study investigated the effects of neonatal Cap administration on the appearance and development of head wounds in rats wearing and not wearing plastic collars to prevent self-grooming and scratching.

METHOD

Animals

Virgin female Wistar strain rats (*Rattus norvegicus*) (250-300 g) were selectively mated to produce six consecutive litters. Prior to parturition and throughout lactation, dams were housed

Requests for reprints should be addressed to Porfirio Carrillo, Laboratorio de Neurobiología del Desarrollo, Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, Apartado Postal 566, Xalapa, Ver. 91000, México. E-mail: carrillo@bugs.invest.uv.mx

individually in Plexiglas maternity cages (50 × 40 × 20 cm) containing nesting material (wood shavings). Animals were kept in a colony room at 23 ± 1°C, 50% humidity, and a 12-h illumination cycle (lights on at 0900 h). Food (Purina chow) and water were available ad lib. At birth (P0), 24 pups of both sexes were randomly assigned to one of three Cap treatment groups. Each Cap treatment group consisted of a dam and eight pups. The control group was comprised of three litters of eight pups each ($n = 24$). This distribution attempted to minimize genetic and prenatal biological differences between litters. In all cases, subjects were weaned on P25 after which they had free access to water and food (Purina chow).

Capsaicin (8-methyl-*N*-vanillyl-6-nonenamide) (Sigma, St. Louis, MO) dissolved in an emulsion with 10% ethanol, 10% Tween 80, and 80% saline (0.9%) was subcutaneously (SC) injected to newborns (a single dose of 50 mg/kg) on P2 in a volume of 0.01 ml. During injections pups were in an anesthetic state produced by hypothermia. Controls were injected SC with a similar volume of the emulsion without Cap.

Experimental Groups

The physical appearance of the skin in the four groups was analyzed at different developmental ages: group C, male ($n = 10$) and female ($n = 8$) rats, injected with Cap-free emulsion and raised without collars; group C + Pc, male ($n = 5$) and female ($n = 4$) animals injected with Cap-free emulsion and raised wearing plastic collars from P21 to P45; group Cap, male ($n = 8$) and female ($n = 7$) subjects, injected with Cap emulsion and raised without collars; group Cap + Pc, male

($n = 8$) and female ($n = 7$) rats injected with Cap emulsion and raised with plastic collars from P21 to P45.

Procedure

Plastic collars were fitted on rats from P21 to P45. Every 5 days the diameter of collars was adjusted to compensate for the physical growth of the animals (from 8 to 12 cm total). On P46 the collars were removed and subjects were raised normally until the end of the experiment.

In a preliminary study, the plastic collars were shown not to provoke skin lesions around the neck and did not appear to alter normal rodent behavior.

Physical Skin Exploration

A careful inspection of wounds was performed daily (1000–1200 h) from P21 to P45, as well as on days P50, 55, 60, 65, 70, 75, and 80 of age. Wounds were scored using the following scale: 1, a wound consisting of little red spots around mouth, eyes, and chin; 2, skin lesions distributed over 30% of the total head surface, along with associated disheveled fur and areas of spotting alopecia; and 3, 70–80% of skin lesions around the eyes, mouth, head, ears, and snout.

Body weights of all subjects were measured every 5 days. To assess the neurotoxic effectiveness of the Cap treatment, control and experimental animals on P85 were exposed to a single drop of 1% solution of Cap into the right eye (43). The frequency of the eye-wiping response was scored for 30 s.

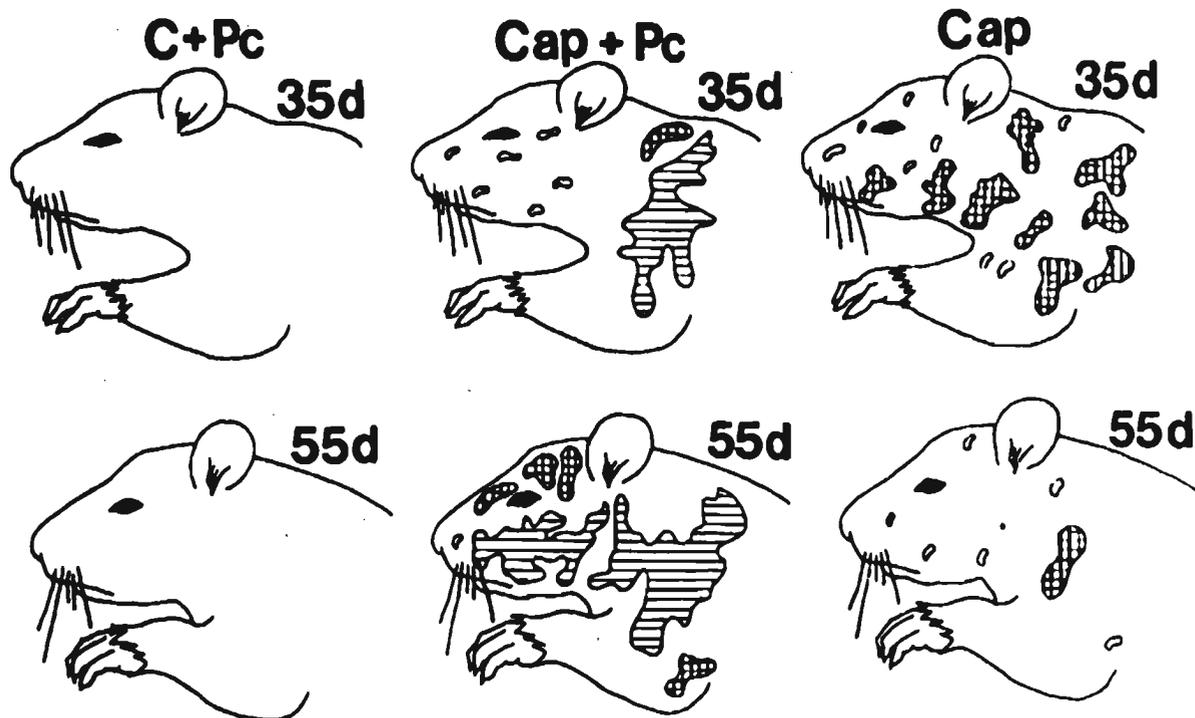


FIG. 1. Lateral view of cephalic and thoracic areas of rats at different ages and treatments. In the C + Pc group the cutaneous wounds were absent. Cap-treated rats wearing (Cap + Pc) or not wearing (Cap) plastic collars, had the greatest number of skin lesions on P55 and P40, respectively. (In all the illustrations the T arrow indicates the placement of collars on the Cap + Pc group.)

Statistical Analysis

Statistical comparisons of cutaneous ulcer scores were done using a two-way ANOVA with post hoc Tukey's tests when pertinent. In all cases, comparisons between groups were performed by taking the scores of subjects wearing the collars vs. the scores of animals after removing the collars. Body weight differences between groups were compared with a two-way ANOVA. Ear and eye opening were determined by using a two-way nonparametric ANOVA with an additional Mann-Whitney *U*-test. In all statistical analyses an α level of $p < 0.05$ was considered significant unless otherwise stated.

RESULTS

Body weight comparisons throughout the study yielded no significant differences between control and experimental groups. No statistical differences were observed for pinna detachment (control 15.4 ± 0.1 vs. cap-treated 15.2 ± 0.2) or eye opening (control 14.7 ± 0.1 vs. cap-treated 13.9 ± 0.1) (mean \pm SE).

Daily inspection of control animals, reared with or without collars, revealed no skin abnormalities. In contrast, Cap-treated animals reared with or without collars showed consistent skin lesions beginning on P21. These cutaneous wounds were detected primarily around the head and neck regions (Fig. 1). The size of ulcers ranged from 2 to 12 mm² and included areas of blood clots, hemorrhages, scars, and limited areas of infection.

In the Cap group, the most severe skin lesions were observed around P40 and by P70 normal skin was gradually restored. In contrast, Cap animals wearing the collars (Cap + Pc) had the greatest number of skin lesions around P55. Approximately 10 days after the collars were removed, the lesions disappeared and animals were free of ulcers by P80. These data show that the Cap group had an earlier onset of skin lesions compared to the Cap + Pc group. However, the severity of the cutaneous lesions was greater in the Cap + Pc group (Fig. 2). Analysis of the mean lesions scores between these groups revealed significant differences among groups before, $F(1, 29) = 41.19, p < 0.0001$, and after, $F(1, 29) = 81.15, p < 0.0001$, the collars were removed.

Because self-grooming and scratching may be more vigorous in males than females, this may explain the differences observed between the sexes in the severity and temporal appearance of skin lesions.

Figure 3 compares the temporal course of skin lesions in both experimental groups of females. Head wounds appeared in the Cap + Pc groups on P21 and P22, respectively. In the Cap group the largest lesioned area was observed around P35 to P40. The skin lesions gradually vanished by P70, and the skin returned to a normal healthy appearance. The Cap + Pc group exhibited the greatest severity of head lesions around P50, which was 10 days after the collar was removed. In addition, the injured area was more extensive in the Cap + Pc

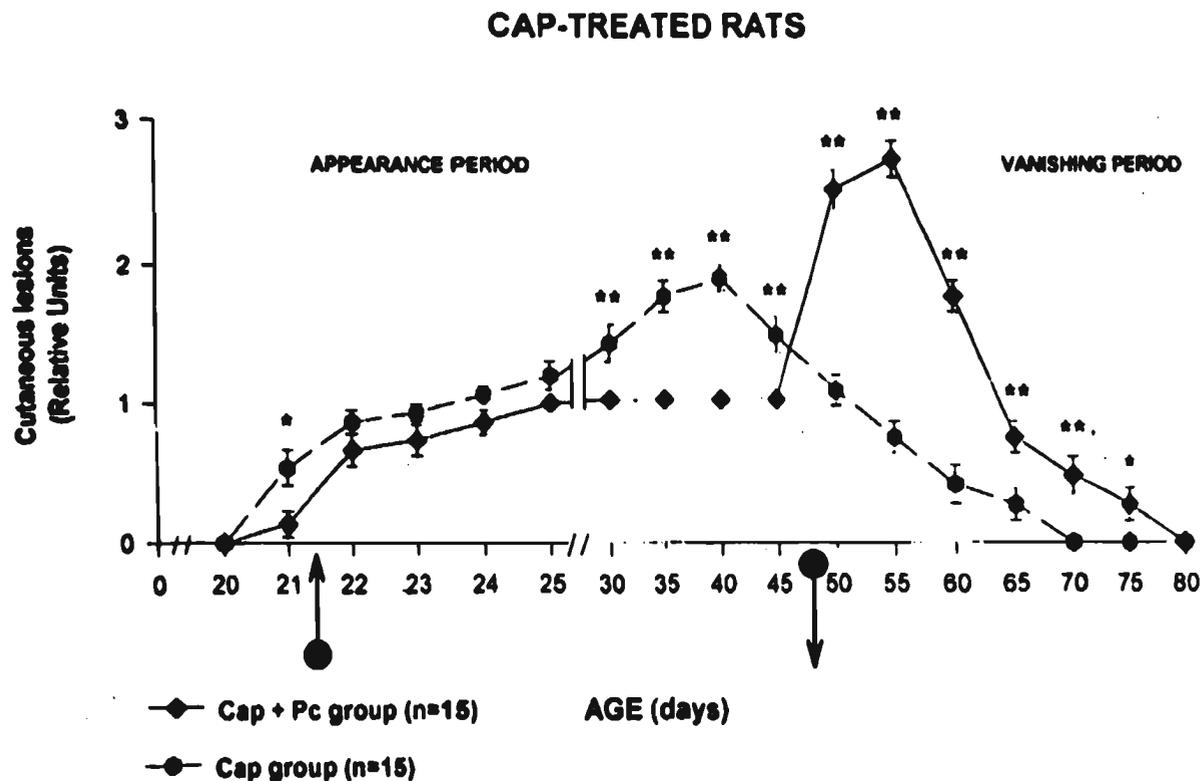


FIG. 2. Temporal course of cutaneous wounds in both sexes of Cap-treated rats wearing (Cap + Pc) or not wearing (Cap) plastic collars during postnatal development. After the collar was removed (\downarrow), the Cap + Pc animals showed an exacerbation of cutaneous wounds that peaked on P55, and then progressively declined in severity by P80. The Cap group had the maximum number of cutaneous lesions around P40 and then lesions gradually disappeared by P70. Note that cutaneous wounds did not appear before P21. Post hoc Tukey's tests, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

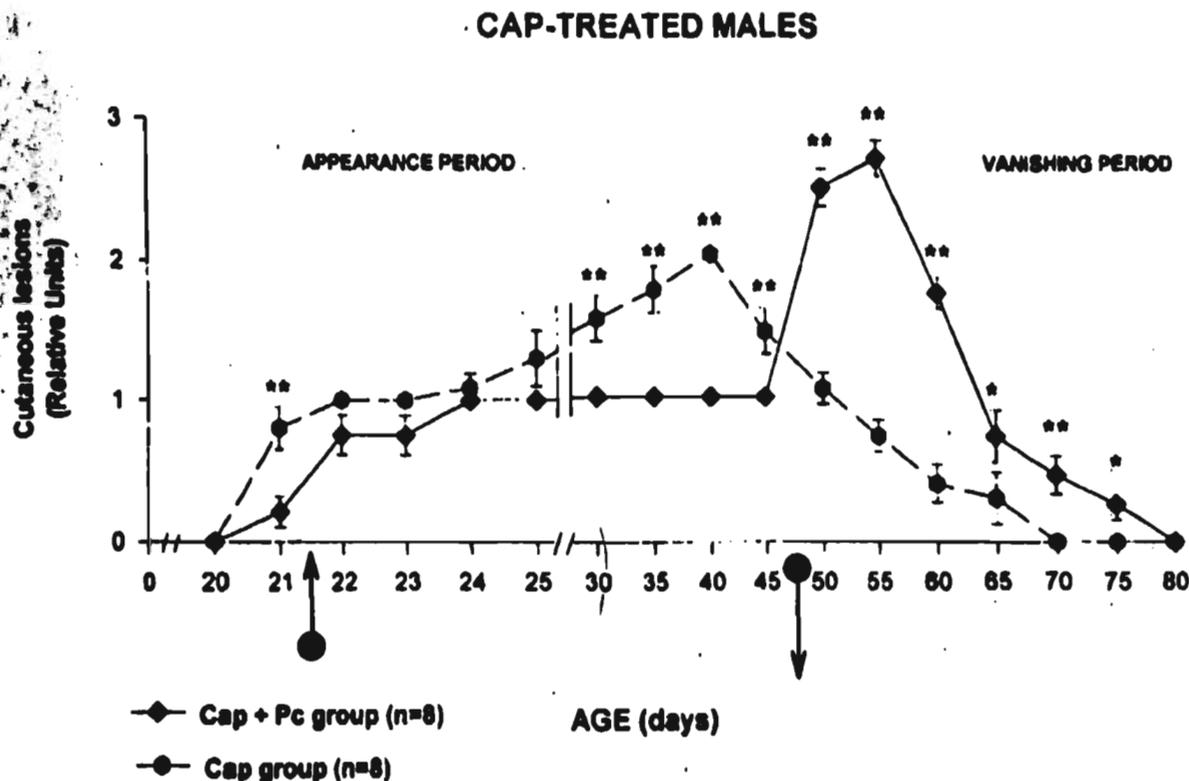


FIG. 4. Temporal course of skin wounds in Cap-treated male rats wearing (Cap + Pc) or not wearing (Cap) plastic collars during postnatal development. Before collar removal both experimental groups displayed a progressive increase in the number of skin lesions. The severity of skin lesions was significantly ($p < 0.05$) worse in the Cap group at P21, 30, 35, 40, and 45. When collars were removed in males the temporal sequence of wounds was similar to those observed in Fig. 2.

when collars were removed, the cutaneous lesions were exacerbated, probably by the scratching and grooming in an already dystrophic skin (25).

Another point derived from this study concerns the skin lesions that were distributed selectively on the well-innervated and vascularized neck and head areas.

This regional distribution of skin lesions is in areas innervated by the trigeminal nerve (8-10,13,19,21,25). It is known that trigeminal fibers play a critical role in maintaining the healthy tissues of head and neck regions (25,42), and probably does so with more intensity than any other nerves fibers throughout the body. Moreover, this nerve carries an important number of fibers sensitive to Cap actions (41). Thus, disruption of these fibers can be related to the selective appearance of wounds in those skin areas.

Our data indicate that the skin lesions reach their largest extent in males. It is known that grooming and scratching are more forceful and more frequent in males than in females (27). This could be an important factor for the sex differences observed in the present study.

As stated above, the trophic disturbances provoked by neonatal Cap treatment resulted in transient skin lesions that are resolved by 2-3 months of age. To our knowledge, the gradual disappearance of skin lesions after a 20-30-day period

following their largest extension has not been documented elsewhere. Although there is not a current explanation for this recovery processes, it is possible that the regrowth of the remaining C and A- δ fibers (33) is involved. Another possibility concerns the salutary effects provoked by self-grooming activity upon the secretory and fur maintenance of the rat (31).

Finally, it is important to note the trophic effects of some peptides such as tachykinins (30), CGRP (14), and VIP (19), which are released into the skin from Cap-sensitive nerve endings. Lack of these substances, which produce vasodilatation, incremental changes in vascular permeability and plasma extravasation (24), mast cell degranulation induction (7), lymphocytes stimulation (32), and growth of connective tissue (30), can possibly account for the appearance of the cutaneous lesions observed in the present data. The differential content of tachykinins between males and females (23) may also explain the sex differences observed in the present study.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by doctoral fellowship from CONACYT to PCC-92264, and Grant FOMES (95)-UAT-MMG. The English version of the manuscript was preliminary corrected by Isabel Pérez Monfort. The final version of the manuscript was corrected by the Neurotoxicology and Teratology editorial assistant office.

REFERENCES

1. Aldakogius, H.; Killman, E.; Persson, J.: Labelling of cutaneous sensory nerve endings with axonally transported Horseradish Peroxidase in wheat germ agglutinin horseradish peroxidase conjugate: A methodological study in the rat. *J. Neurosci. Methods* 15:281-294; 1986.
2. Borda, Y.-A.: Trophic factors and neuronal survival. *Neuron* 2:1525-1534; 1989.
3. Brain, S. D.; Williams, T. J.: Interaction between the tachykinins and calcitonin gene-related peptide lead to the modulation of edema formation and blood flow in the rat skin. *Br. J. Pharmacol.* 97:77-82; 1989.
4. Buck, S. H.; Burks, T. F.: The neuropharmacology of capsaicin-review of some recent observations. *Pharmacol. Rev.* 38:179-226; 1986.
5. Butcher, E. O.: Hair growth in young albino rats in relation to body size and quantity of food. *J. Nutr.* 17:151-159; 1939.
6. Carrillo, P.; Manzo, J.; Martínez-Gómez, M.; Sales, M.; Pacheco, P.: Neonatal capsaicin administration: Effects on behavioral development of the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 48:447-452; 1994.
7. Fewtrell, C. M.; Foreman, J. L.; Oehme, P.; Stewart, J. M.: The effects of substance P on histamine and 5-HT release in the rat. *J. Physiol. (Lond.)* 330:393-417; 1983.
8. Furness, B. B.; Papka, R. E.; Della, N. O.; Costa, M.; Eskay, R. L.: Substance P-like immunoreactivity in nerves associated with the vascular system of guinea-pigs. *Neuroscience* 7:447-459; 1982.
9. Gamse, R.; Lackner, D.; Gamse, G.; Leeman, S. E.: Effect of capsaicin pretreatment on capsaicin-evoked release immunoreactive somatostatin and substance P from primary sensory neurons. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 316:35-41; 1981.
10. Gamse, R.; Leeman, S. E.; Holzer, P.; Lembeck, F.: Differential effects of capsaicin on the content of somatostatin, substance P and neurotensin in the nervous system of the rat. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 317:140-148; 1981.
11. «QL» Gamse, R.; Saria, A.: Potentiation of tachykinin-induced plasma protein extravasation by calcitonin gene-related peptide. *Eur. J. Pharmacol.* 114:61-66; 1985.
12. Ganichrow, J. R.; Seltzer, Z.; Bitchacho, N.: The effect of neonatal capsaicin treatment on gustatory behavior in the albino rat. *Physiol. Behav.* 52:1037-1042; 1992.
13. Gibbins, I. L.; Furness, J. B.; Costa, M.; Macintyre, I.; Hillyard, C. J.; Girgis, S.: Co-localization of calcitonin gene related peptide-like immunoreactivity with substance P in cutaneous vascular and visceral sensory neurons of guinea pigs. *Neurosci. Lett.* 57:125-130; 1985.
14. Haegerstrand, A.; Dalsgaard, C.-J.; Jonzon, B.; Larsson, O.; Nilsson, J.: Calcitonin gene related peptide stimulates proliferation of human endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:3295-3303; 1990.
15. Hajós, M.; Jancsó, G.; Engber, G.: Capsaicin induced excitation of locus coeruleus neurons. *Acta Physiol. Scand.* 129:415-420; 1987.
16. Han, V. K. M.; Smith, A.; Myint, W.; Nygaard, K.; Bradshaw, S.: Mitogenic activity of epidermal growth factor on newborn rat astroglia: Interaction with insulin-like growth factors. *Endocrinology* 131:1134-1142; 1992.
17. Hashimoto, K.; Ogawa, K.; Laver, W. F.: Histochemical studies of the skin. The activity of the cholinesterases during the embryonic development of the skin in the rat. *J. Invest. Dermatol.* 40: 15-26; 1963.
18. Holzer, P.; Bucsics, A.; Lembeck, F.: Distribution of capsaicin-sensitive nerve fibers containing immunoreactive substance P in cutaneous and visceral tissues of the rat. *Neurosci. Lett.* 31:253-257; 1982.
19. Holzer, P.: Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: Involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience* 24:739-768; 1988.
20. Holzer, P.: Capsaicin: Cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacol. Rev.* 43: 143-201; 1991.
21. Holzer, P.: Capsaicin-sensitive nerves in the control of vascular effector mechanisms. In: Wood, J. N., ed. *Capsaicin in the study of pain*. New York: Academic Press; 1993:191-218.
22. Jancsó G.; Király, E.; Jancsó-Gábor, A.: Pharmacologically induced selective degeneration of chemosensitive primary sensory neurons. *Nature* 270:741-743; 1977.
23. Joossens, J.; Leeman, S. F.: Developmental and hormonal regulation of the sex difference in preprotachykinin gene expression in rat anterior pituitaries. In: Leeman, S.; Krause, J. E.; Lembeck, F., eds. *Substance P and related peptides*. New York: New York Academy of Science; 1991:1-9.
24. Lundberg, J. N.; Brodin, E.; Hua, X.; Saria, A.: Vascular permeability changes and smooth muscle contraction in relation to capsaicin-sensitive substance P afferents in the guinea pig. *Acta Physiol. Scand.* 120:217-227; 1984.
25. Maggi, C. A.; Borsini, F.; Santicioli, P.; Ceppetti, P.; Abelli, L.; Evangelista, S.; Manzini, S.; Theodorsson-Norheim, E.; Somma, V.; Amenta, F.; Bacciarelli, C.; Meli, A.: Cutaneous lesions in capsaicin-pretreated rats. A trophic role of capsaicin-sensitive afferents? *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 336:538-545; 1987.
26. Mathur, M.: Kinetics of proliferation and differentiation in the hair follicle and epidermis in neonatally undernourished rats. *Am. J. Pathol.* 81:9-24; 1975.
27. Moore, C. L.: Sex differences in self-grooming of rats: Effects of gonadal hormones and context. *Physiol. Behav.* 36:451-455; 1986.
28. Nagy, J. I.; Hunt, S. P.; Iversen, L. L.; Emson, P. C.: Biochemical and anatomical observations on the degenerative of peptide-containing primary afferent neurons after capsaicin. *Neuroscience* 6:1923-1934; 1981.
29. Nance, D. M.; King, T. R.; Nance, P. W.: Neuroendocrine and behavioral effects of intrathecal capsaicin in adult female rats. *Brain Res. Bull.* 18:109-114; 1987.
30. Nilsson, J.; von Euler, A. M.; Dalsgaard, C.-J.: Stimulation of connective tissue cell growth by substance P. *Nature* 315:61-63; 1985.
31. Patenaude, F.; Boret, J.: Self-grooming and social grooming in North American beaver (*Castor canadensis*). *Can. J. Zool.* 62: 1972-1978; 1983.
32. Payan, B. G.; Brewster, D. R.; Goetzl, E. J.: Specific stimulation of human T lymphocytes by substance P. *J. Immunol.* 133:3260-3265; 1983.
33. Pertoveara, A.: Collateral sprouting of nociceptive C-fibers after cut or capsaicin treatment of the sciatic nerve in adult rats. *Neurosci. Lett.* 90:248-253; 1988.
34. Pestche, U.; Fleischer, E.; Lembeck, F.; Handwerker, H. O.: The effect of capsaicin application to a peripheral nerve impulse conduction in functionally identified afferent nerve fibers. *Brain Res.* 265:233-240; 1983.
35. Rice, F. L.; Mance, A.; Munger, B. L.: A comparative light microscopic analysis of the sensory innervation of the mystacial pad in the hamster, rat, gerbil, guinea pig and cat. I. Innervation of vibrissal follicle-sinus complexes. *J. Comp. Neurol.* 252:154-174; 1986.
36. Rice, F. L.; Munger, B. L.: A comparative light microscopic analysis of the sensory innervation of the mystacial pad. II. The common fur between the vibrissae. *J. Comp. Neurol.* 252:186-205; 1986.
37. Ritter, S.; Dinh, T. T.: Capsaicin-induced neural degeneration: Silver impregnation of cell bodies, axons and terminals in the central nervous system of the adult rat. *J. Comp. Neurol.* 271:79-90; 1988.
38. Ritter, S.; Dinh, T. T.: Capsaicin-induced degeneration in rat brain and retina. In: Wood, J. N., ed. *Capsaicin in the study of pain*. New York: Academic Press; 1993:105-138.
39. Sales, M.; Pulido, S.; Torrero, C.; Regalado, M.; Loranca, A.: Hair growth in neonatally undernourished rats. *Doc. Estud. Med. Biol.* 43:13-18; 1996.
40. Schoitzinger, R. J.; Landis, S. C.: Postnatal development of autonomic and sensory innervation of thoracic hairy skin in the rat. A histochemical, immunocytochemical, and radioenzymatic study. *Cell Tissue Res.* 260:575-587; 1990.
41. Silver, W. L.; Farley, L. G.; Fincer, T. E.: The effects of neonatal capsaicin administration on trigeminal nerve chemoreceptors in the rat nasal cavity. *Brain Res.* 561:212-216; 1991.

AUTHOR: Please answer

query 1
on last page in full I

42. Silver, W. L.; Mason, J. R.; Marshall, D. A.; Maruniak, J. A.: Rat trigeminal, olfactory and taste responses after capsaicin desensitization. *Brain Res.* 333:45-54; 1985.
43. Szolcsányi, J.; Jancsó-Gábor, A.; Joo, F.: Functional and fine structural characteristics of the sensory neuroblocking effect of capsaicin.

- Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 289:157-169; 1975.
44. Winter, J.; Woolf, C.; Lynn, B.: Degenerative responses of sensory neurons to capsaicin-induced damage. In: Wood, J. N., ed. *Capsaicin in the study of pain.* New York: Academic Press; 1993: 139-157.