



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**RITMO DIARIO DE LOS PROCESOS DE  
ATENCIÓN Y EL IMPACTO DE LA  
MALNUTRICIÓN EN LA RATA ADULTA  
SPRAGUE- DAWLEY**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
BIÓLOGA**

**PRESENTA:**

**MARÍA DE JESÚS ROMERO SANCHEZ**



**Director: Dra. Pilar Durán Hernández**

**2010**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



## Hoja de Datos del Jurado

**1. Datos de la alumna**

**Romero  
Sánchez  
María de Jesús  
20624438  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
098334328**

**2. Datos del Tutor**

**Doctora  
Pilar  
Durán  
Hernández**

**3. Datos del sinodal 1**

**Doctor  
Baltazar  
Barrera  
Mera**

**4. Datos del sinodal 2**

**Doctor  
René de Jesús  
Cárdenas  
Vázquez**

**5. Datos del sinodal 3**

**Doctor  
Manuel  
Miranda  
Anaya**

**6. Datos del sinodal 4**

**M en C  
Enrique  
Moreno  
Saenz**

**7. Datos del trabajo escrito**

**Ritmo diario de los procesos de atención y el impacto de la malnutrición en la rata adulta Sprague-Dawley  
91 p  
2010**

## Agradecimientos

Agradezco Infinitamente a la Universidad Nacional Autónoma de México por su contribución en mi formación como persona y universitario, por brindarme todo el conocimiento de la más alta calidad para mi crecimiento intelectual desde el bachillerato hasta la Universidad.

A la Facultad de Ciencias por permitirme una oportunidad en la dentro de ella.

Al Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus Juriquilla por brindarme el material y el espacio necesario para la realización de mi trabajo.

Al Bioterio del INB, por la atención y cuidado de mis animales. Agradezco a Arturo por siempre estar listo para trabajar.

A la Dra. y AMIGA Pilar Durán a quien admiro, quiero y respeto por abrirme las puertas del Laboratorio C-01 para la realización y dirección de este trabajo, guiarme durante todo el proyecto, por su confianza e infinito apoyo brindado todo el tiempo.

Al Dr. Manuel Miranda Anaya por sus enseñanzas, apoyo incondicional, por los consejos, por su aporte en mi formación personal e intelectual, por permitirme conocer el apasionante mundo de la Cronobiología, por los viajes a Juriquilla, por su impulso, por su dedicación, por estar siempre ahí...

Al los miembros del jurado por el tiempo para la revisión de este trabajo y sus valiosos comentarios ante éste:

- Dr. Baltazar Barrera Mena
- Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez
- Dra. Pilar Durán Hernández
- Dr. Manuel Miranda Anaya
- M. en C. Enrique Moreno Saenz

A Karla Mondragón por todas esas desveladas juntas, gracias por apoyarme en todo momento, gracias por tu amistad y consejos

A mi hermana Mireya Romero por su apoyo incondicional, por las noches de consejos y por la hospitalidad brindada durante toda la realización de mi proyecto

A mi amor Eduardo Martínez por su apoyo y amor incondicional, por compartir sus conocimientos gráficos, por impulsarme a alcanzar mis metas, por siempre creer en mí y por compartir su vida conmigo.

A mis amigas, Anaid y Jazmín por seguir juntas en este camino, por ayudarme en todo momento, por su amistad y por la confianza que depositaron en mí.

A mi madre por siempre creer en mí, por no dejarme caer nunca, por tener siempre esa palabra de apoyo, por conducirme con su valentía ante las adversidades.

A mi padre por ser pieza importante en mi esfuerzo

A mis hermanos, Patty, Elba, Mire y Lalo, por quererme y regalarme siempre esas palabras de apoyo, por compartir sus conocimientos y experiencias y por brindarme su hombro en todo momento.

Finalmente quiero agradecer especialmente a una persona que admiro profundamente, al amigo y maestro, al Investigador, a la guía, al consejero a la persona que jamás te dejaría caer, a ti que siempre tuviste espacio y tiempo para escuchar, para ayudar, para aconsejar, a ti que me abriste las puertas de tu laboratorio, que me permitiste entrar al mundo de las Neurociencias, te agradezco infinitamente la huella que dejaste en mi formación profesional y personal, gracias por guiarme, GRACIAS DR. LEON CINTRA MCGLONE donde quiera que estés.

## DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a aquellas importantes personas que quiero y admiro y que siempre creyeron en mí. Aunque no todas están físicamente, todas de alguna u otra manera han marcado mi vida:

*A mi madre, **Felipa Sánchez***

*A mi tutora, la **Dra. Pilar Durán***

*A mi guía, **Dr. León Cintra McGlone***

*Y a ti vida mía, **Eduardo Martínez***

## INDICE

<b>1. Resumen</b> .....	3
<b>2. Introducción</b> .....	4
<b>3. Antecedentes</b> .....	8
Generalidades de los ritmos circadianos.....	8
El reloj circadiano en mamíferos.....	12
Regulación Circadiana de los procesos de atención en humano...	16
El desarrollo del Sistema Nervioso Central en mamíferos.....	18
Periodos críticos del desarrollo cerebral.....	23
Factores que afectan al desarrollo del Sistema Nervioso Central...	24
La malnutrición y el desarrollo del Sistema Nervioso Central...	25
La nutrición inadecuada durante el desarrollo.....	31
La malnutrición y el núcleo supraquiasmático.....	35
La formación hipocámpica y la malnutrición.....	37
La corteza y la malnutrición.....	42
El proceso de Atención.....	45
Estructuras cerebrales involucradas en el proceso de atención	48
Técnicas conductuales para analizar el proceso de atención ....	48
Los laberintos.....	48
Pruebas de discriminación.....	49
<b>4. Planteamiento del problema</b> .....	51
<b>5. Hipótesis</b> .....	52

<b>6.</b>	<b>Objetivo General</b> .....	<b>52</b>
<b>7.</b>	<b>Objetivos Particulares</b> .....	<b>53</b>
<b>8.</b>	<b>Material y Método</b> .....	<b>53</b>
	Dietas.....	<b>56</b>
<b>9.</b>	<b>Procedimiento de registro</b> .....	<b>58</b>
<b>10.</b>	<b>Análisis de Datos</b> .....	<b>61</b>
<b>11.</b>	<b>Resultados</b> .....	<b>62</b>
	Discusión.....	<b>77</b>
<b>12,</b>	<b>Conclusión</b> .....	<b>82</b>
<b>13.</b>	<b>Bibliografía</b> .....	<b>84</b>

## RESUMEN

La malnutrición proteínica es un problema a nivel mundial que afecta a millones de prenatales y niños pequeños durante los estados más vulnerables del desarrollo de su Sistema Nervioso Central. Como resultado de esto se alteran diversos acontecimientos de la maduración en el cerebro que resulta en alteraciones de la conducta, alterando las funciones cognitivas y provocando disturbios en la memoria y aprendizaje. Los daños provocados al sistema nervioso central por la malnutrición dependen de la intensidad, la duración y el momento en que se instale. Estudios previos han demostrado que la malnutrición proteínica produce cambios irreversibles en varias estructuras del Sistema Nervioso Central, por ejemplo, la Formación Hipocámpica y algunos núcleos del Tallo Cerebral. Por otro lado, la malnutrición también produce alteraciones en algunos sistemas homeostáticos y circadianos. El Núcleo Supraquiasmático regula los principales procesos cognitivos, conductuales y fisiológicos en los organismos y se ha reportado que es dramáticamente alterado por la malnutrición proteínica instalada durante la gestación, periodos perinatales y postnatales. Un desorden circadiano produce en el cuerpo hormonas, productos químicos y neurotransmisores en las cantidades incorrectas y en la época inadecuada del día. La atención es el proceso cognoscitivo más básico a nivel de entrada y procesamiento de información y es fundamental para que otros procesos como el aprendizaje, la memoria, el lenguaje y la orientación, entre otros se lleven a cabo. El objetivo de este trabajo fue determinar los efectos de la malnutrición hipoproteínica pre natal, post natal y crónica en la comparación diaria de los procesos circadianos de atención en la rata adulta Sprague-Dawley. Para esto se usaron 4 grupos de 10 ratas macho Sprague-Dawley de 90 días de edad, sometidos a diferentes tipos de malnutrición, el grupo control (Co), malnutrido prenatal (MPr), malnutrido postnatal (MPt) y el malnutrido crónico (MCr), además de una prueba conductual T-maze. Cada grupo fue privado 12 hrs de agua antes de realizar la prueba. La prueba en el laberinto consistía en que cada rata realizara 10 ensayos y una prueba final con el fin de explorar la ritmicidad diaria, la prueba se realizaba cada 2 hrs durante un ciclo de 24 hrs. Los aciertos en cada prueba medían la atención de la rata. Los resultados indicaron que el proceso de atención muestra un claro ritmo diario, el cual se ve afectado por la malnutrición, ya que el grupo Co muestra un 80% de eficiencia, y en los grupos malnutridos MPr y MCr se ve casi abolido el ritmo, sugiriendo que estos grupos están fuera de fase con una eficiencia menor del 40%. A diferencia de los demás grupos malnutridos, el grupo MPr no pierde su ritmicidad, sin embargo, se presenta totalmente fuera de fase exhibiendo un fenómeno de espejo con la ritmicidad del grupo Co. Por otro lado, el tiempo del día cuando los animales muestran una rápida respuesta asertiva en cada prueba es diferente según el grupo. Este trabajo propone que las alteraciones en ritmicidad y en atención mostradas por los grupos malnutridos se deben a la incompleta maduración del Sistema Nervioso Central durante los estados prenatales resultando en una mala respuesta de adaptación en la edad adulta.

## INTRODUCCIÓN

Una de las más grandes características de la vida es la ritmicidad, cuyo origen puede ser de carácter interno o externo. Los ritmos externos están impuestos desde fuera del ser vivo; los factores desencadenantes son: el ambiente (la luz, la humedad, la temperatura, la salinidad, etc.) y los fenómenos cósmicos (alternancia día-noche, fases lunares, variación de estaciones, etc.). Los ritmos internos no están determinados por factores ambientales sino genéticos, sin embargo, pueden ser modificados por el mismo ambiente. Ejemplos de estos ritmos son el latido cardíaco, los movimientos respiratorios, el ciclo sueños-vigilia, etc. Los ritmos internos se conocen como **biológicos**. Un ritmo biológico es la recurrencia de cualquier fenómeno dentro de un sistema biológico a intervalos más o menos regulares, de carácter hereditario y genéticamente determinado. La sincronización entre los ritmos biológicos y los factores ambientales es de suma importancia para todos los organismos vivos ya que es lo que les permite predecir y prepararse con anticipación a cambios en el ambiente. El periodo del ritmo es la constante que lo define y según la duración de dicho periodo se establece una variedad de ritmos biológicos como son: ritmos circadianos, circamareales, circa lunares, circa anuales, o bien ultradianos e infradianos (revisado en DeCoursey, 2004).

En los mamíferos, los ritmos biológicos se rigen por un reloj maestro y diferentes osciladores ubicados en todo el organismo, Este reloj que controla la mayoría de las oscilaciones circadianas se ha ubicado en el Hipotálamo en la estructura del Núcleo Supraquiasmático (NSQ). Si un mamífero presentara daños o ausencia de dicho reloj, sería más vulnerable ante cualquier cambio del ambiente sin poder predecir los peligros y con grandes desventajas evolutivas.

Por otro lado, la nutrición inadecuada es uno de los principales factores no genéticos que afectan el desarrollo cerebral provocando además, alteraciones en el crecimiento general. La malnutrición es el estado nutricional en el cual uno de los componentes en la dieta se encuentra en exceso o carencia parcial. Los efectos que producen la malnutrición son de continuo interés mundial, en particular en los periodos fetales e infantiles, ya que provoca retrasos en el desarrollo físico, pero además en el largo plazo, déficits permanentes en el aprendizaje y conducta del individuo. Existen numerosos reportes de los daños cognoscitivos que deja la malnutrición pre y post-natal.

La malnutrición es un problema real a nivel mundial, La Organización de las Naciones Unidas han notificado que el número de gente que sufre de malnutrición en el mundo ha aumentado a 40 millones solo de 2007 al 2008. Con ello la cifra total de malnutridos en el mundo se eleva ya a 963 millones, comparada con los 923 millones del 2007, se calcula que en el 2009 lleguemos a los 1020 millones de malnutridos (FAO, 2009), de los cuales 300 millones son niños menores de 12 años. Una de cada 6 personas es malnutrida en el mundo, incluyendo a 160 millones de niños menores de 5 años. (Food and Agriculture Organization of the United Nations). En México, las cifras también son alarmantes, el Instituto Nacional de la Nutrición ha informado que la parte Sur del país es la más afectada en cuanto a problemas nutricionales en particular los municipios rurales e indígenas. (Instituto Nacional de la Nutrición, 2005).

Se ha demostrado que la malnutrición reduce la productividad y capacidad mental de los escolares, así como debilita la resistencia a enfermedades infecciosas, siendo los niños más pequeños los que puedan enfrentar problemas

de salud toda su vida debido a la malnutrición, además, mujeres embarazadas y madres nodrizas, se encuentran entre los grupos más vulnerables (ONU, 2004).

Diferentes investigaciones han demostrado que la malnutrición proteínica ejerce importantes daños en el desarrollo de los sistemas circadianos. Como consecuencia, varios de los ritmos biológicos muestran diferentes alteraciones, como son: retrasos en los estados de vigilia (Cintra, 1988), decremento significativo en la actividad motriz y en la conducta de juego y exploración (Escobar, 1996), decremento en la fuerza de acoplamiento entre los osciladores que manejan el ritmo circadiano en la ingesta de agua (Aguilar Roblero, 1997), alteración en la actividad electrocortical en la privación total o parcial de sueño, entre otros. Las alteraciones con respecto a la atención se ven reflejadas a largo plazo con respecto a las propiedades circadianas de las funciones rítmicas (Castañón Cervantes y Cintra 2002).

Por todos estos factores se ha hecho una serie de investigaciones con modelos animales y con humanos para el estudio completo de la malnutrición pre natal, post natal y crónica (Morgane, 2002). Como modelo animal apropiado, se ha empleado la rata, ya que el desarrollo de su sistema nervioso central, es muy similar al del humano, por ser ambas, especies altriciales. Las especies altriciales son todas aquellas que nacen en un estado de desarrollo sensorial y motor relativamente atrasado por lo que necesitan del cuidado materno hasta cierta edad.

Se ha comprobado que la malnutrición causa severas anormalidades y daños conductuales, alterando funciones cognoscitivas en lenguaje, la memoria y

el aprendizaje (Morgane, 1993; Morgane, 2002; Tonkiss, 1993). Además estudios previos en malnutrición han reportado alteraciones en la organización temporal y establecimiento de funciones oscilatorias y rítmicas (Durán 2004, Castañón-Cervantes y Cintra 2002, Aguilar Roblero 1997).

Así mismo, se han reportado daños anatómicos provocados por este modelo de malnutrición en áreas cerebrales específicas, como la Formación Hipocámpica (Morgane 2002, Granados 1995, Cintra 1997) estructura que forma parte de los procesos de atención, memoria y aprendizaje. Otras estructuras que se han visto dañadas de manera severa por la malnutrición hipoproteínica son el NSQ (Aguilar Roblero 1997, Cintra 2002, Durán 2004) encargado de la organización de los ritmos biológicos y la Corteza Cerebral (Guevara Pérez 2004) involucrada en las más altas funciones cognitivas, como la toma de decisiones, el pensamiento, el razonamiento, la atención, etc. La atención es un mecanismo que controla y regula los procesos cognoscitivos y sirve como filtro de los estímulos ambientales, lo que le permite a los organismos tener estrategias de sobrevivencia y aprendizaje de sus experiencias.

Por lo anterior, en el presente proyecto se pretende determinar los efectos producidos por la malnutrición pre natal, post natal y crónica sobre el ritmo diario de los procesos de atención en la rata adulta.

## ANTECEDENTES

### Generalidades de los Ritmos Circadianos

Todos los organismos vivos, desde los más simples hasta los más complejos, presentan variaciones periódicas en la mayoría de sus procesos bioquímicos, fisiológicos y conductuales que desempeñan un papel clave en su integración, además permiten a los organismos predecir el momento de la probable aparición de estímulos ambientales y así iniciar de antemano las respuestas correctivas adecuadas (Moore-Ede, M.C., 1986).

La función de los relojes biológicos es la de mantener la cronostasia, la cual participa en la regulación de otras funciones en las que la medición del tiempo es importante, como por ejemplo la estimación del fotoperiodo ambiental, la orientación espacial guiada por la posición de las estrellas, y en general, todos aquellos procesos orientados a la adaptación del individuo a su nicho temporal. El reloj biológico ayuda a los organismos a prepararse a dar una respuesta anticipatoria ante sus necesidades y le permite al individuo medir la duración del día y de la noche, y marca el tiempo exacto en donde es mejor realizar o responder a cualquier tarea fisiológica o conductual a través de un ciclo diario (Hirshie, 2004).

En general, los ritmos biológicos se pueden estudiar mediante funciones cosenoidales, ya que presentan cuatro características básicas (Golombek, 1997)

- *Periodo*: ( $\tau$ ), definido como el intervalo de tiempo entre dos acontecimientos idénticos, es decir, la duración de un ciclo completo.

- *Mesor*: Valor medio de la variable estudiada, calculado a lo largo de un periodo completo.
- *Amplitud*: Diferencia entre el mesor y el valor máximo alcanzado por la variable durante el periodo.
- *Fase*: Valor instantáneo de una variable biológica en un momento dado. Para caracterizar la fase, lo más usual es determinar la hora del día en que la variable estudiada alcanza su valor máximo a lo largo del ciclo; a este punto se le conoce como “acrofase”.

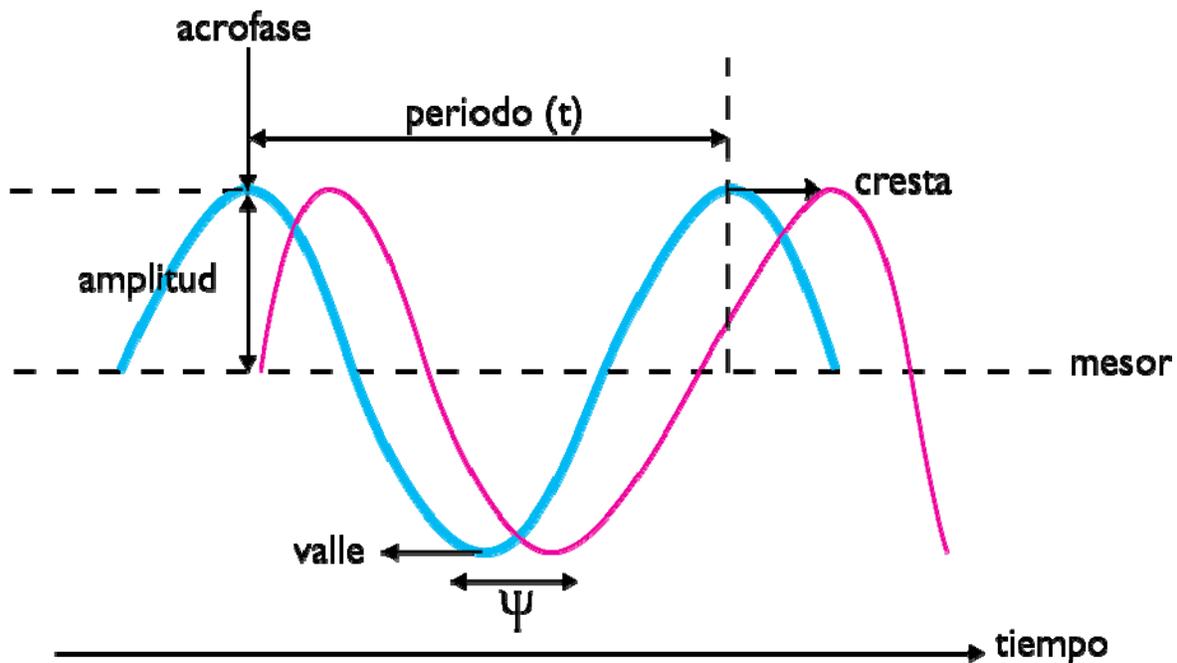


Figura 1. Parámetros Básicos del análisis de una oscilación

Existen diversos ritmos biológicos, pero los más estudiados por su frecuencia, duración y efectos en los seres vivos son los ritmos circadianos cuyos periodos son muy cercanos a 24 h. Los ritmos circadianos cuentan con ciertas características, como son: tener un valor de periodo ( $\tau$ ) de alrededor de 24 h, ser

endógeno, compensar su temperatura y tener la capacidad de sincronizarse con agentes ambientales externos que cuente con un periodo de alrededor de 24 hrs

(T). Estas características del reloj circadiano han permitido a los organismos desarrollar mecanismos específicos de predicción para una mejor adaptación a un ambiente cíclico. Por su carácter adaptativo, los ritmos circadianos le permiten al organismo funcionar en coordinación con el medio externo.

Para la mayoría de los organismos vivos, uno de los cambios ambientales más evidentes es el que resulta de la rotación de la Tierra sobre su propio eje. Los hábitos de actividad-reposo, ingesta de comida, de agua, etc., se coordinan con la alternancia del día y la noche y no es sorprendente, que algunos procesos fisiológicos, psicológicos y bioquímicos también oscilen con una frecuencia similar a la del día solar. Un aspecto fundamental para considerar a los ritmos como circadianos es que en condiciones de aislamiento, la ritmicidad biológica persiste aunque con una ligera variación en el periodo que la caracteriza, a dicho fenómeno se le conoce como “free running” o libre curso. Aunque los periodos de los ritmos en libre curso pueden ser extremadamente precisos día con día, estos no son rígidos e invariables.

Los ritmos endógenos son innatos, lo que significa que tienen una base genética y no son adquiridos por aprendizaje. En condiciones naturales, los ciclos externos constituyen la señal de tiempo que los sincroniza, siendo la luz un sincronizador muy eficiente. Las señales más útiles como referencias temporales son conocidas como “Zeitgebers” (en alemán significa “dador de tiempo”) o sincronizadores. Un zeitgeber regula la expresión del ritmo endógeno; el sincronizador que hasta la fecha es el más estudiado es el ciclo de luz-oscuridad.

La sincronización sólo puede darse con eventos ambientales que coincidan o tengan una frecuencia de oscilación parecida a la del organismo, ya que el periodo del organismo ( $\tau$ ) puede ser modificado sólo en ciertos límites. Cuando se llega a establecer una relación de sincronización entre un ritmo y un factor externo, o sea que  $\tau$  se ajuste a  $T$ , se indica que el periodo y la fase de ese ritmo están sincronizados por  $T$ , en otras palabras se dice que se ha establecido una relación de fase ( $\Psi$ ) entre el periodo de la fase del organismo y del sincronizador o señal ambiental. En una relación de fase ( $\Psi$ ) se pueden presentar adelantos y atrasos. Se dice que se adelanta cuando el periodo del sincronizador es menor que el del ritmo, o atrasos cuando el periodo del sincronizador es mayor que el del ritmo (Pittendrigh, 1981).

También existen los llamados sincronizadores no-fóticos como la temperatura, las señales sociales (sonidos, vocalizaciones, señales hormonales), algunos fármacos, la actividad física y los pulsos de alimento. En el humano es especialmente evidente la influencia de los eventos sociales como sincronizadores, sin embargo, en él también es muy común que se dé el fenómeno conocido como enmascaramiento o "masking" pues influyen sobre la conducta pero no influyen sobre el reloj (Aschoff et al, 1982).

La sincronización consta de tres elementos que se usan para descartar cualquier enmascaramiento y éstas son:

1. El estímulo debe controlar el periodo del ritmo, en otras palabras  $\tau = T$
2. Se debe dar una relación de fase estable.
3. El estímulo debe controlar la fase.

### El reloj circadiano en mamíferos

El reloj circadiano es la parte del sistema que tiene la capacidad de generar una oscilación para medir el tiempo aun en ausencia de entradas cíclicas ambientales. La capacidad de presentar oscilaciones es inherente a la función celular individual, y en organismos complejos existe un sistema cronométrico especializado en generar y regular las funciones implícitas en el concepto de reloj biológico.

En los mamíferos, este oscilador maestro se halla en el Hipotálamo, en los Núcleos Supraquiasmáticos (NSQ) (Golombek, 1997).

En los mamíferos el sistema circadiano está compuesto por: un componente visual, integrado por fotorreceptores acoplados a vías visuales que median la sincronización; estructuras marcapasos que generan la señal circadiana; vías emergentes desde los marcapasos a los sistemas efectores, donde básicamente un único oscilador central primario, el NSQ, está conectado a un único sensor fótico, la retina; modulando las respuestas por múltiples vías de salida que incluyen tractos nerviosos eferentes y señales humorales como hormonas secretadas por la glándula pineal (melatonina) y la glándula pituitaria, respectivamente.

Los NSQ son estructuras localizadas en la base del Tercer Ventrículo, consisten de un par de cuerpos ovoides que contienen alrededor de 16,000 neuronas pequeñas y otras células de soporte (Figura 1). El neurotransmisor más común en los NSQ es el ácido  $\gamma$ -amino butírico (GABA). Otros neuropéptidos

identificados en los NSQ son la arginina vasopresina, el neuropéptido-Y y el péptido vasoactivo intestinal (VIP) (Golombek, 1997).

El NSQ estructural y funcionalmente está compuesto por una Corteza y un Núcleo. Las diferencias más pronunciadas entre estas dos estructuras son mayores en su citoquímica y su quimio - arquitectura. Las mejores respuestas por parte del NSQ se originan cuando estas dos estructuras trabajan en conjunto (revisado en DeCoursey, 2004).

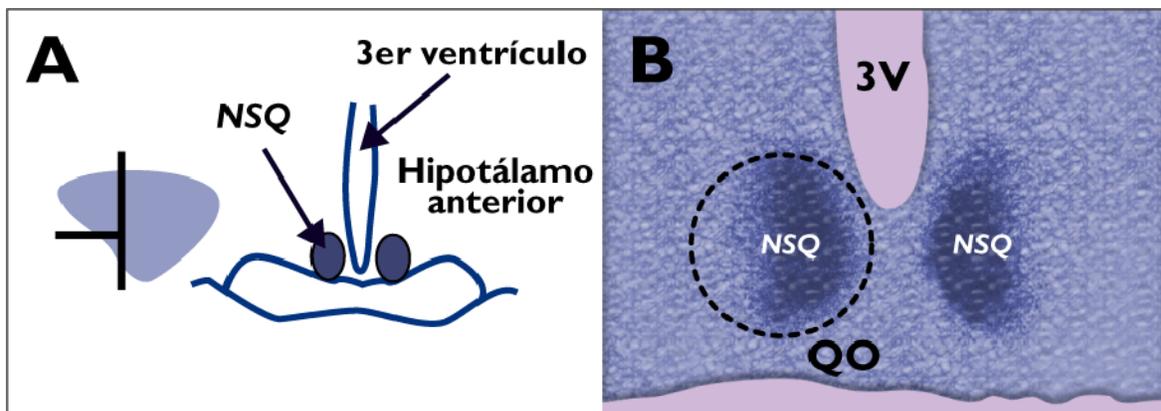


Figura 2. Localización y caracterización NSQ en la rata. La figura A es el esquema de un corte coronal del Hipotálamo que muestra las relaciones anatómicas del NSQ, el corte está indicado en la vista lateral del cerebro. La figura B es un corte histológico teñido con la técnica de Nissl, las líneas punteadas indican el NSQ del lado derecho, 3V, Tercer Ventrículo. QO, Quiasma Óptico (Tomado y modificado de Aguilar-Roblero R., et al., 2004).

En el caso de los mamíferos, el NSQ, está conectado directamente con las células ganglionares tipo W de la retina. A pesar de la destrucción del NSQ algunos ritmos persisten, por ejemplo, la mitosis en la córnea y en el intestino. Además, se ha demostrado que las ratas con lesiones en el NSQ expresan un ritmo de actividad de anticipación al alimento. Por lo tanto, estas observaciones revelan la existencia de osciladores marcapasos circadianos fuera del NSQ; se sugiere también que estos osciladores pueden estar presentes en la mayoría de

las células y tejidos de los mamíferos, hoy existen evidencias de que el sistema circadiano de mamíferos está compuesto por múltiples osciladores circadianos, un marcapaso central en el NSQ y osciladores moderadores en otras regiones del cerebro y en tejidos periféricos (Yamazaki et al, 2002).

La figura 3 muestra una síntesis de las conexiones que se conocen entre el NSQ y otras regiones cerebrales, lo que permitiría entender la influencia de la regulación circadiana sobre una diversidad de respuestas fisiológicas y conductuales.

El reloj maestro de mamíferos es sensible a las señales no-fólicas. La principal entrada neural de estas señales proviene del Núcleo del Rafe y del Núcleo Talámico Paraventricular, los cuales mandan sus axones directamente al NSQ. El Rafe se localiza en el Tallo Cerebral, que es la región que comunica al cerebro con la Medula Espinal, y donde se controlan diversas funciones vegetativas como la frecuencia cardíaca, la respiración, el sueño e información acerca del estado de excitación del animal. Los axones del Rafe conectan principalmente en el área ventrolateral del NSQ. El Rafe conecta también hacia el Núcleo Intergeniculado, lo cual permite modular la información fólica. El neurotransmisor asociado con las proyecciones del rafe es la serotonina, la cual modula la actividad del NSQ. Por su parte, el Núcleo Talámico Paraventricular, participa en el mantenimiento de la actividad de la Corteza Cerebral durante la vigilia (revisado en DeCoursey, 2004).

Otra forma de modulación no-fólica del NSQ tiene que ver con la melatonina, la cual es producida por la Glándula Pineal durante la fase nocturna en el ciclo circadiano de mamíferos (revisado en DeCoursey, 2004).

**La actividad conductual**, la secreción de melatonina, la producción del neuropéptido Y y la liberación de serotonina son todos ritmos diurnos, y funcionan entonces como manecillas moduladoras del reloj maestro. El NSQ envía sus axones hacia diversos núcleos del Hipotálamo, el Tálamo y la Región Pre-Óptica, las salidas del NSQ a través de la Zona Subparaventricular podrían regular la actividad de otras áreas del Hipotálamo, y de esta forma generar los ritmos circadianos endocrinos, neuroendocrinos y autonómicos. Las salidas de información neuronal a través del Área Retroquiasmática permitirían regular la actividad del cerebro anterior, el tallo cerebral y la médula espinal, y generar así los ritmos circadianos del estado de vigilia, de integración sensoriomotora y de algunas funciones autonómicas. Por su parte, a través del Núcleo Paraventricular del Tálamo regularía la actividad del Hipocampo, la Amígdala, el Septum, la Corteza del Cíngulo y el Núcleo Accumbens, generando de esta forma los ritmos circadianos relacionados con el tono afectivo, algunos procesos cognoscitivos y la integración sensorio-motora. La mayoría de sus estructuras a las que envían sus axones las neuronas del NSQ también envían sus axones de regreso a este Núcleo, formando así una de las asas de retroalimentación (revisado en DeCoursey , 2004).

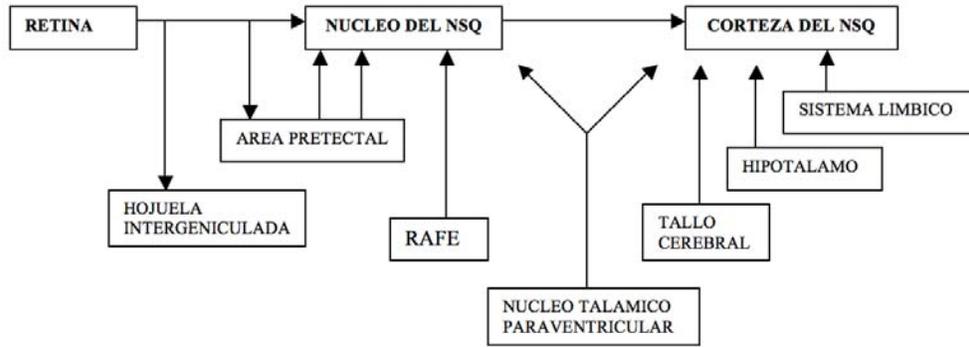


Figura 3. Esquema de las diferentes aferencias que proyectan hacia las dos áreas distintas del NSQ en mamíferos.

### Regulación circadiana de los procesos de atención en humanos

Aunque los humanos somos diurnos por naturaleza, las sociedades modernas industrializadas deben funcionar las 24 hrs del día sin parar. Esto incluye que los errores en la eficiencia o en el desempeño del personal que opera maquinaria nocturna también se presentan con mayor frecuencia. Este resultado se debe a que la atención se ha visto afectada de manera circadiana, ya que en general los errores son mayores en la noche y existe un declive en la elaboración de tareas al comienzo de la tarde (Waterhouse, *et al*, 2001). Particularmente en humanos ha sido difícil predecir la ciclicidad endógena de la capacidad de atención y, puesto que las poblaciones humanas están expuestas tanto a cambios ambientales como a influencias sociales, costumbres y tradiciones, se hacen muy difícil distinguir de qué forma interactúan en el ritmo resultante. Estudios realizados por Roenneberg y Aschoff en 1990, sugieren que durante el invierno disminuye nuestro rendimiento físico y aumenta el desempeño intelectual, mientras que hacia el verano este patrón se invierte (revisado en Gruart *et al*, 2002).

Los ritmos biológicos tienen una función esencial para la interacción del ser humano con el entorno físico. En nuestras rutinas diarias siempre existen momentos para satisfacer las diferentes necesidades. Estas actividades las hemos organizado, sin ser realmente conscientes de ello, de acuerdo con los tiempos que nos dictan internamente nuestros relojes biológicos. Sin embargo, las interacciones sociales han adquirido influencia primordial como estímulo sincronizador. Por ejemplo, en la mayoría de los países del mundo se acepta la jornada de trabajo de ocho horas y de descanso el fin de semana. Igualmente, la asistencia de los niños a la escuela debe ser durante la mañana y por algunas horas, pero, ¿cuánto se ajustan estas convenciones a las necesidades del organismo y, en particular, a las características de los relojes biológicos de cada individuo? En estudios que han comparado los ritmos en la temperatura corporal con la medición de algunas tareas conductuales en sujetos sanos, sujetos a horarios convencionales de sueño, se ha reportado que ambos ritmos cambian durante el transcurso del día, mostrando los valores más bajos al inicio de la mañana y al final de la tarde. Cuando estas medidas son extendidas a la noche, los resultados son desfavorables pues las tareas se desempeñan pobremente, estos resultados son preocupantes para las tareas mentales asociadas con los trabajos nocturnos (Waterhouse, *et al*, 2001).

Hoy en día, las demandas impuestas por la sociedad urbana suelen entrar en conflicto con nuestros ritmos biológicos, tal como lo ejemplifican los horarios de trabajo nocturnos o los turnos rotatorios, los vuelos transmeridianos y las escuelas vespertinas o nocturnas, entre otros. Alguna vez todos hemos expresado dificultad para prestar atención, sobre todo durante sesiones prolongadas de estudio o

cuando se tiene que trabajar después de comer. No solo existen ritmos circadianos en las tareas cognoscitivas, también existen ciclos ultradianos. Dentro de estos ciclos ultradianos existen los de 90 a 120 minutos que se presentan en jóvenes y adultos como fluctuaciones en los niveles de atención durante el día. Estos ritmos ultradianos se han detectado también en la realización de tareas motoras poco precisas, en el rendimiento de las tareas verbales, espacial y en la capacidad de ejecución cognoscitiva. Coexistiendo con los ciclos ultradianos, se encuentran ritmos de somnolencia de 12 horas que incluyen el aumento en la propensión a dormir al medio día y en la noche. Esta tendencia de dormir la siesta no es exclusiva de la especie humana, también se ha observado en otros primates, aun en ausencia de alimento. Igualmente, se ha comprobado que al inicio de la tarde disminuye la capacidad de concentración y se obtiene bajo rendimiento en las tareas de tipo cognoscitivo, probablemente en relación con el aumento en la somnolencia. Por todo lo anterior se desprende la importancia de distribuir las actividades escolares en sesiones que consideren estos ritmos de mayor desempeño cognoscitivo (Revisado en Gruart et al, 2002)

### *El desarrollo del Sistema Nervioso Central en mamíferos.*

En términos generales, la secuencia completa de los eventos del desarrollo no varía en lo fundamental, entre las diferentes especies de mamíferos. Hasta cierto punto, la única diferencia sustancial con respecto al desarrollo cerebral es el tiempo de gestación en relación con los estados de maduración cerebral.

En general la histogénesis del Sistema Nervioso Central en todos los mamíferos se puede dividir en tres estados principales:

1. Organogénesis;
2. Producción de neuronas y glia; y
3. Diferenciación de neuronas y glia inmaduras

Los tres son periodos transitorios de vulnerabilidad relacionados con varias fases del ciclo celular.

Los procesos del desarrollo cerebral involucran una serie de eventos sucesivos, sugiriendo que cada uno deriva del anterior. Si alguno de los eventos neurobiológicos presenta un retraso, provoca una cadena de reacciones capaces de amplificar los errores funcionales, desde dar una mala dirección, cambiar el tiempo ó la ausencia de elementos en el desarrollo, aumentando así la modificación del avance normal en la maduración del cerebro y el desarrollo de expresiones cognoscitivas altamente complejas (Ej. inteligencia, atención, aprendizaje). En otras palabras, el retraso o cese de alguno de los pasos en el desarrollo afectan al siguiente, alterando así hasta el último paso en la organización cerebral (Morgane, 1993).

Varios estudios indican que la Matriz Celular presenta patrones bien conocidos de proliferación. Durante la organogénesis existen varios picos de replicación neuronal, los cuales producen su división celular. La organogénesis es una etapa característica del desarrollo temprano. La matriz celular es sintetizadora de DNA en porciones interiores de su membrana, estas células migran hacia la superficie de los Ventrículos para comenzar la mitosis. Cuando se da la división de las células precursoras, muchas de las células hijas permanecen en la membrana y comienzan otra nueva proliferación, mientras las demás migran fuera de ella para convertirse en neuronas. Por esta razón dicha células

precursoras necesitan más material y energía para llevar a cabo la proliferación siendo éste un periodo crítico del desarrollo.

Es de suma importancia tomar en cuenta la cantidad neuronal ya que de acuerdo a esta se establecerán las funciones normales del cerebro. Existen diferentes tipos y cantidad de neuronas según el área específica del cerebro, la formación nuclear y las partes interconectadas del sistema nervioso. Estas características serán las mayores determinantes de la ejecución neuronal.

Las células del Sistema Nervioso Central no pueden dividirse después de que la neurona definitiva está formada. Entonces, el número de neuronas en diferentes partes del sistema nervioso central es, con excepción a la división microneural (células Granulares, Bulbo Olfatorio y el Giro Dentado Hipocampal), determinado aparentemente en los primeros estados del desarrollo. Las neuronas maduras no tienen capacidad para cambiar tipo o para migrar a otras locaciones. El número de neuronas generadas pueden ser reguladas de dos formas: 1) Por factores que alteran el número de células madre, los cuales operan tempranamente en la neurogénesis, y muestran los efectos más drásticos y marcados; 2) Factores que alteran el número de descendientes de cada célula madre, este factor opera más tarde, cuando el linaje ya está expandido. Ambos cambios podrían ser controlados por mecanismos intrínsecos (mecanismos genéticos) y extrínsecos (influencia del ambiente nutritivo, hormonas o interacción con otras células como células madres restantes, descendientes de las células madres o células aún no diferenciadas) a la población. El número de células gliales parece estar proporcionalmente ajustadas a la población neuronal.

Según Williams y Herrup (Morgane, 1992), el desarrollo del sistema nervioso central se puede ver producido en tres grandes fases de solapamiento. 1) La primera fase es el desarrollo del sistema nervioso genético el cual se relaciona con el desarrollo de los tejidos así como con el número de neuronas que están destinadas a producir, y los receptores de estas células que necesitan para sobrevivir, la programación de la muerte celular, etc.; 2) La segunda fase, el sistema nervioso embrionario que emerge tal como la instrucción genética y empieza a interactuar dentro de un medio celular. La interacción de estas partes entonces define la forma y la talla del sistema nervioso. El número de neuronas son entonces ajustadas interactivamente por cambios en el potencial y grado de proliferación de la muerte celular programada; 3) La tercera fase del desarrollo comienza cuando el cerebro transforma la organización funcional y el organismo comienza un arreglo con el ambiente que lo rodea. Durante este periodo la organización neuronal es mejorada en términos de forma, número y distribución, con el re-arreglo de axones, dendritas en crecimiento, sinapsis ramificadas o retraídas siendo finamente ajustadas, y se va estableciendo la densidad de receptores asociados con la producción de neurotransmisores. En relación con el desarrollo del Sistema de Neurotransmisores, existe considerable evidencia de que, antes de la Formación Sináptica, las Monoaminas pueden ser liberadas como un tipo de hormona sirviendo como señales morfogenéticas o de desarrollo que ayudan a regular la proliferación neuronal, la migración, la diferenciación de dendritas y axones, sinaptogénesis y muerte celular. Mattson y Hauser (Morgane, 1992) recalcan que uno de los principales papeles de neurotransmisores es regular la formación de los circuitos neuronales. Estos

también parecen desempeñar un papel principal en la sinaptogénesis y la modificación adaptativa de las conexiones neuronales durante el desarrollo. Mattson y Hauser (1991) también puntualizan que la liberación de glutamato desde los axones entorrinales desempeña un papel activo en la sinaptogénesis.

El desarrollo de las células individuales (neuronas y células gliales) puede generalmente estar dividido dentro de tres fases principales: proliferación, migración y diferenciación, durante las cuales ellas adquieren su fenotipo neuronal o Glial, su desarrollo interneuronal y su relación Neuronal-Glial. Con respecto al resultado de la migración celular, las neuronas jóvenes podrían moverse de acuerdo al rígido horario temporal a lo largo de vías específicas con el fin de llegar a sus locaciones finales en sincronía con sus patrones aferentes sinápticos. La importancia del factor tiempo debe ser enfatizado a la importancia, ya que si la migración fuera lenta por algún daño al cerebro, las neuronas jóvenes también podrían llegar tarde a su destino para reconocer un blanco específico fibroso. Después del proceso de gastrulación que se produce en las capas celulares primitivas se da la formación del ectodermo, mesodermo y endodermo. A partir del ectodermo se da una serie de señales químicas y cambios morfogénéticos que dan origen a las células precursoras nerviosas, las cuales forman a su vez la placa neural y el tubo neural. Este último posteriormente forma a los precursores de las principales regiones encefálicas: prosencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo

### Periodos Críticos del desarrollo cerebral

El desarrollo es un fenómeno en el cual los eventos previos afectan la manifestación de eventos actuales y subsecuentes. Por lo tanto, los organismos en desarrollo son más susceptibles a daños irreversibles que los organismos maduros.

El Cerebro define y construye las redes neuronales en todos los mamíferos, antes y después del nacimiento. Un organismo interactúa con su medio ambiente afinando y ajustando sus conexiones. Los cambios ocurren durante los “periodos críticos”. La hipótesis de periodo crítico, propuesta por Dobbing y cols. desde 1968 propone que los procesos de desarrollo del SNC son vulnerables a ser modificados con gran facilidad por estímulos exógenos (por ejemplo la malnutrición), o endógenos (hormonas). Así, el momento en el cual se llevan a cabo cada uno de los procesos de maduración del Sistema Nervioso

Central ha sido denominado periodo crítico (Dobbing, 1968, 1970, 1990; Kretchmen, 1989; Smart, 1991). Después de un periodo crítico, las conexiones disminuyen en número y son menos susceptibles a cambios, pero las conexiones restantes son fuertes, más confiables y más precisas.

La importancia que tiene el concepto de periodo crítico es que la maduración del Sistema Nervioso no es un proceso lineal. Un periodo crítico representa una ventana de desarrollo única que no puede ser representada en ningún otro momento. Durante los periodos críticos los procesos de organización son más fácilmente modificados o interrumpidos, por lo que normalmente se llevan a cabo rápidamente (Morgane, 2002).

#### *Factores que Afectan al desarrollo del Sistema Nervioso Central*

En las etapas prenatal y postnatal tempranas del desarrollo del Sistema Nervioso Central de los mamíferos ocurren numerosos procesos de maduración, como la neurogénesis, la migración y diferenciación neural, la formación y organización de circuitos neuronales, la gliogénesis y la mielinización. Todos, son necesarios para integrar el sustrato anatómico de los centros funcionales que regulan el sueño, el aprendizaje y en general para el correcto funcionamiento del organismo (Dobbing, 1972, Rodier, 1980). Durante el desarrollo, estos procesos pueden ser afectados por una gran variedad de factores endógenos o exógenos, en los cuales, la naturaleza y la severidad de la perturbación dependen de la sincronización del factor con respecto al estado de desarrollo (Dobbing, 1972, Rodier, 1980, Smart, 1991).

El desarrollo cerebral está determinado por una regulación genética y por la nutrición, la cual va a determinar dicha regulación. Entonces, los genes codifican la formación de enzimas proteicas y determinan su función catalítica así como el control de los sitios intracelulares y el tiempo de activación y desactivación de la acción enzimática durante el desarrollo, sin embargo, los factores exógenos como la malnutrición pueden alterar la actividad de enzimas e interferir con la síntesis de proteínas y su estructura. (Morgane, 2002).

La nutrición inadecuada afecta las capacidades de organización cerebral y varias funciones en diferentes vías metabólicas. Altera la organización morfológica, cambios en parámetros bioquímicos y ocurren disfunciones fisiológicas, permitiendo las interrupciones en varios aspectos conductuales.

Un crecimiento normal fetal, que incluye al Sistema Nervioso Central, depende en gran parte de un suplemento adecuado de nutrimentos esenciales tales como los aminoácidos, la glucosa, los elementos traza (minerales principales) y las vitaminas así como de un adecuado suministro de oxígeno. El mejor conducto de estos nutrientes, es la Placenta. Cuando cualquiera de estos componentes falla los daños pueden llegar a ser irreparables.

Varios tipos de ambientes no nutricionales son pertenecientes a un tipo de malnutrición social, por ejemplo, se ha encontrado que el etanol, interfiere con las tres fases de la nutrición fetal, el soporte maternal, la transferencia placentaria, y la utilización fetal. Otro ejemplo es el del tabaco, se ha demostrado que el cigarro es uno de los más poderosos determinantes en el retraso del crecimiento intrauterino, teniendo como resultado la deficiencia del peso cerebral. Los efectos del cigarro

están relacionados con el decremento en la ingesta nutrimental y con las alteraciones en el flujo sanguíneo placentario (Morgane, 1993).

### *La malnutrición y el desarrollo del Sistema Nervioso Central*

Como es bien sabido, el desarrollo del Sistema Nervioso Central en los mamíferos involucra una serie de cambios secuenciales y altamente regulados que incluyen la división celular (neurogénesis y gliogénesis), la migración celular, la diferenciación celular (incluyendo arborización dendrítica, extensiones axonales y formación de circuitos), mielinización, formación de sinapsis, síntesis y liberación de neurotransmisores y muerte celular selectiva durante todo el proceso del desarrollo. Estos diferentes procesos tienen distintas tablas de tiempo dependiendo de las diferentes especies, iniciando principalmente, en la etapa prenatal y extendiéndose más allá del nacimiento, otros procesos, sin embargo, empiezan hasta el periodo post-natal (Fig.3).

Al igual que el humano, la rata, es un mamífero altricio, es decir, su cerebro es inmaduro en términos de desarrollo al momento del nacimiento y requiere de cuidados maternos en el periodo post- natal temprano (Davis, 1992). La nutrición probablemente es la más grande influencia ambiental para el feto y el neonato, y desempeña un papel necesario en la maduración y desarrollo funcional del sistema nervioso central ya que está directamente relacionada con el abastecimiento de la energía y de los nutrientes necesarios para el desarrollo de las estructuras celulares y varios sistemas metabólicos esenciales. La malnutrición es uno de los principales factores no genéticos que afectan el desarrollo del cerebro y pueden alterar también la capacidad del organismo para interactuar y

responder adecuadamente a su ambiente. La palabra malnutrición abarca todas las formas de nutrición insuficiente, por estar ausente un elemento específico, afectando la calidad del alimento ingerido, particularmente un desequilibrio en la ingesta de alimentos (Morgane y cols., 1993).

El insulto de la malnutrición afecta los aspectos del desarrollo y funcionamiento del cerebro. En general, la malnutrición daña la proliferación celular durante el desarrollo del cerebro, afecta la histogénesis celular en gran medida por un retraso en la proliferación celular, modifica el metabolismo proteínico, produce alteraciones en el arreglo arquitectónico celular y en cambios en la conectividad y plasticidad sináptica, provoca un retraso en el desarrollo cerebral. Involucra distorsión en la cantidad neuronal, pérdida de neuronas debido a la alteración en la migración y en la diferenciación neuronal, alteraciones en la muerte celular por apoptosis, disminución en la densidad axonal y eliminación sináptica, distorsión en circuitos micro y macro neuronales, altera la relación neurona-glia, afecta la coordinación del desarrollo de varios tipos celulares, la formación de circuitos neuronales y el comienzo de la actividad de sistemas de neurotransmisores, además, retardo en el crecimiento intrauterino. Este insulto también afecta la talla corporal, la habilidad motora, la conducta alimenticia, la habilidad para absorber, usar y corregir la alimentación, además de provocar, por todas las alteraciones neuronales, efectos adversos en la capacidad de procesos cognoscitivos como la atención y el aprendizaje. La malnutrición puede retrasar o detener el desarrollo y maduración cerebral (Morgane y cols. 1993, Cintra y cols. 1994, Durán 2004).

Todos los nutrientes influyen en la maduración del sistema nervioso, aunque las proteínas parecen ser el elemento más importante para el desarrollo

de funciones neurológicas. En términos de malnutrición proteínica, se reduce la producción de aminoácidos contribuyendo al decremento de la eficiencia de la placenta, provocando así atraso en el crecimiento fetal. Muchos de estos aminoácidos son precursores de enzimas, hormonas peptídicas y neurotransmisores.

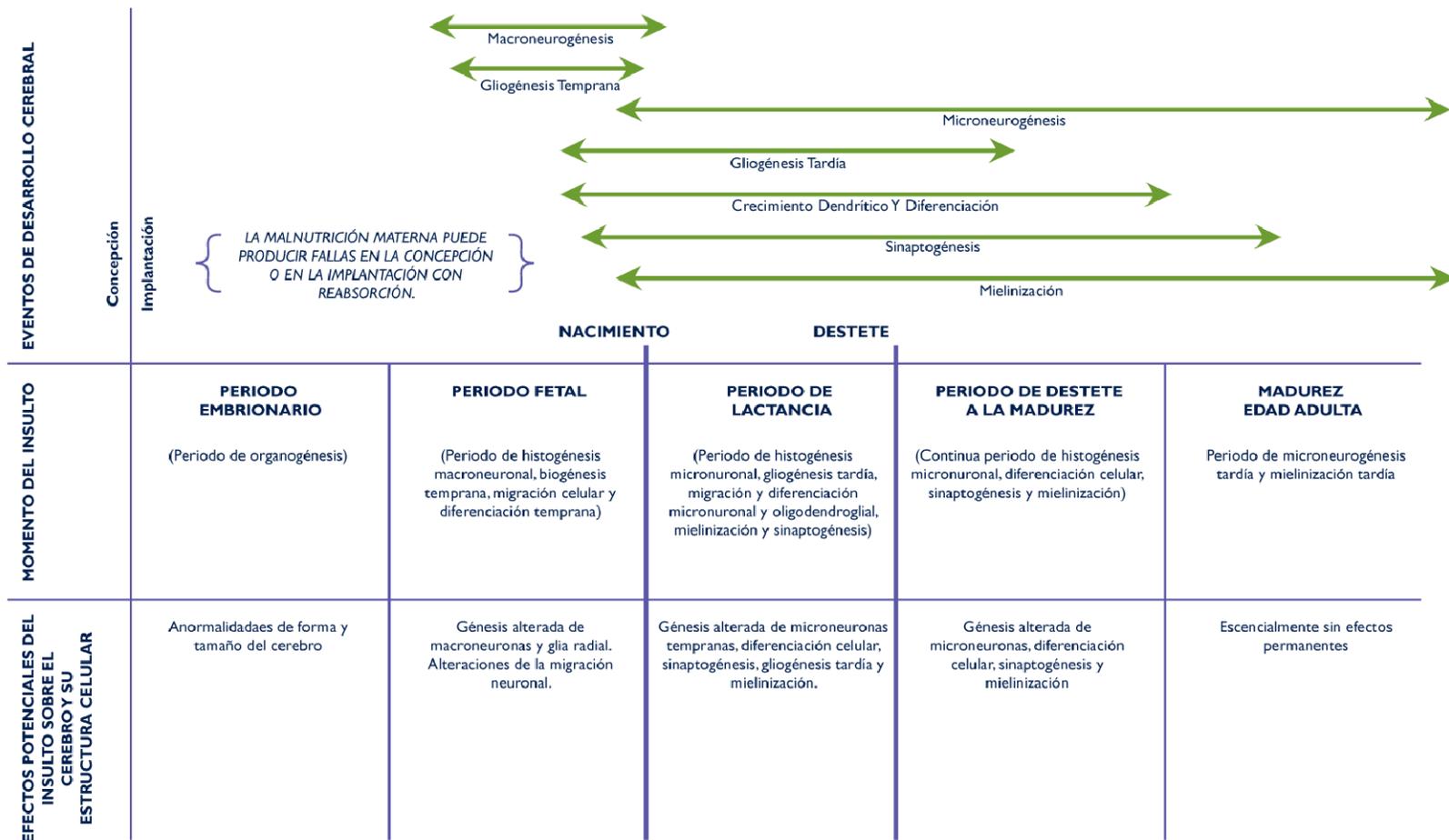


Figura 4. Esquema de los procesos generales (períodos críticos) del desarrollo cerebral en mamíferos altriciales. Se indican los efectos potenciales provocados sobre el cerebro y su organización celular por un insulto como la malnutrición (Modificado de Morgane y cols., 1993)

Los efectos de la malnutrición van a depender de cuatro factores principales:

1. **Tipo de malnutrición** que se desarrolle, que puede ser:
  - a) Alimentación de la madre con una dieta baja en proteína,
  - b) Reducción de la cantidad de la dieta,
  - c) Reducción del número de glándulas mamarias en la madre para la succión de leche por parte de las crías,
  - d) Aumento del número de crías en la camada,
  - e) Rotación de las crías entre las madres y,
  - f) Alimentación artificial de las crías en un ambiente controlado
2. **El periodo** del desarrollo del organismo en el que se presente el insulto de la malnutrición, que puede ser pre o post-natal
3. **El tiempo** que dure la deficiencia nutrimental
4. **El grado** o la severidad del insulto

Según estos factores el insulto influirá a nivel molecular, celular, sistémico o cognoscitivo (Morgane y cols. 1993, Durán 1995).

Como se mencionó anteriormente, la malnutrición proteínica puede instalarse en distintas etapas del desarrollo, ya sea pre, post- natal o ambas, y dependiendo de la etapa donde se presente serán los efectos. Se ha observado que cuando el insulto se instala en algunos de los periodos críticos del desarrollo del organismo o en las etapas post-natales tempranas, antes de finalizar el completo desarrollo del sistema nervioso central, estos cambios son irreversibles (Morgane 1993).

En la Tabla 1 se presenta de manera resumida algunas de las consecuencias que trae consigo dicho insulto:

<b>AUTOR</b>	<b>PRENATAL</b>	<b>POST-NATAL</b>	<b>CRÓNICO</b>
Morgane y cols. 1993	-Retarda la adquisición de muchas tareas de aprendizaje. -Reduce la capacidad de adaptaciones a cambios ambientales. -Desarrollo marginal -Mayor susceptibilidad al insulto -Poco capaces de responder al estrés -Daño hipocámpico	Disminución sensorial -Dificultad al enfrentar nuevas situaciones que requieren nuevas respuestas de adaptación -No saben responder a nuevas demandas ambientales -Dificultad para realizar tareas de atención y aprendizaje -Fácil distracción	Fracaso parcial de los procesos de organización neuronal básica -Alteración en el desarrollo cognoscitivo -Alteración en la maduración social y conductual
Dobbing y Sand, 1971	-Déficit en el crecimiento corporal general		Déficit en el crecimiento corporal general
Davis, 1992	-El índice de celularidad se ve afectado en 10% en el cerebro y en un 15% en el cerebelo		El índice de celularidad se ve afectado en 10% en el cerebro y en un 15% en el cerebelo
-Schöemaker y Wurtman, 1997	Decremento de mielinización	Déficit en el crecimiento corporal general	Decremento de mielinización
Sommerfelt y cols. 1987	Altera el metabolismo de las aminas biogénicas, lo que afecta directamente el sistema serotonina-norepinefrina		
Cintra y cols. 1988	Reducción del sueño MOR y aumento en el sueño de ondas lentas		Deterioro en el estado homeostático del sueño -Reducción en el tamaño del soma de los núcleos del rafe dorsal
Cintra y cols. 2002	Cambio de fase en la duración del sueño MOR, lo presentan en la fase de actividad.		
Cintra y Díaz 1985	Daños en el tallo cerebral rafe dorsal y Locus Coeruleus		
Cintra y cols. 1997	Daños en la formación hipocámpica		
Diaz-Cintra y Cols, 1990	Daños en las áreas visuales y temporales de la neocorteza		

Tabla 1. Daños producidos en diferentes estructuras cerebrales según el tipo de malnutrición, basados en los distintos autores mencionados

### La nutrición inadecuada durante el desarrollo

Es importante señalar la diferencia que existe entre los términos de malnutrición y desnutrición, este último se refiere a la falta de todos los requerimientos nutricionales esenciales en una dieta normal, y el término de malnutrición implica que uno o más de estos nutrientes esenciales están disminuidos o que uno o más de estos nutrientes se presentan en cantidades excesivas (Morgane, 2002).

La insuficiencia calórica crónica (desnutrición) y las dietas desbalanceadas (malnutrición) se han sufrido alrededor del mundo, incluyendo a los países más desarrollados. Además, prácticamente en todas las poblaciones donde existen casos de malnutridos, de baja educación, privaciones económicas, e individuos o familias enteras propensas a ciertas enfermedades, tienden a perpetuarse entre ellos mismos por lo que su nutrición inadecuada tiende a transmitirse de generación en generación. Por lo que los daños del desarrollo intelectual necesitan ser considerados en términos de comunidad, cuantas insuficiencias nutricionales o ambientales dentro de un grupo social afectan la maduración neurológica y social del individuo (Morgane, 2002). Por esto es necesario lograr un conocimiento definitivo de los efectos que producen la desnutrición y la malnutrición sobre todo en el desarrollo cognitivo, así como sus posibles efectos generacionales.

Es claro que las poblaciones en desventajas económicas son más afectadas y presentan muchos más riesgo no sólo nutricionalmente si no por otros factores sociales como el abuso de las drogas y el alcohol, estrés emocional,

inadecuada educación y relaciones fracturadas entre padres e hijos, todas estas desventajas combinadas influyen de manera directa e indirecta en el desarrollo del sistema nervioso central (Morgane, 2002).

Considerando la alta incidencia de malnutrición entre los grupos menos privilegiados, las mujeres embarazadas, lo más probable es que los infantes y niños de grupos económicos bajos han sufrido de privación nutricional en útero. Aunque pudiera esperarse una recuperación física en la adolescencia (Galler, 1987), el daño en las funciones cerebrales y conductuales persisten en esta etapa y hasta la edad adulta al menos en la mitad de los individuos expuestos a malnutrición infantil (Durán, 1995).

La malnutrición puede causar severos efectos sobre el sistema nervioso central. A nivel morfológico se ha visto que la malnutrición provoca estragos en la neurogénesis debido a un retraso en la división celular y la prolongación del ciclo celular lo cual afecta la proporción neurona-glia. Otras alteraciones incluyen el déficit de mielinización debido al decremento en el número de oligodendrocitos y cambio en el metabolismo de la mielina, además de provocar alteraciones en la regulación de varios sistemas neuroquímicos. A nivel conductual, la malnutrición provoca cambios a largo plazo, incluyendo la hiperactividad locomotriz e incremento en las respuestas emocionales, además de insuficiencia en algunas tareas de memoria y aprendizaje.

Se ha demostrado que en general la malnutrición reduce el índice lipídico del cerebro disminuyéndola del 10 al 15% (Benton y cols. 1966, Aguilar Roblero y cols, 1997). Además retrasa la aparición y el desarrollo de algunas funciones locomotoras y los estados de vigilancia (Cintra y cols, 1988, Morgane, 1993). Los

patrones de conducta como ingesta de agua y alimento, juego y conducta exploratoria se ven afectados también (Aguilar-Roblero, 1997). Estudios neuroquímicos han revelado alteraciones en las concentraciones de serotonina, acetilcolina y GABA (Stern y cols., 1975, Sommerfelt y cols. 1987). Se ha observado que la malnutrición proteínica instalada durante los periodos de crecimiento rápido cerebral pre y post-natal altera las concentraciones de aminas biogénicas y la síntesis de neurotransmisores de origen peptídico (Venero y cols., 1992).

Todos estos estudios se han podido realizar con modelos experimentales que presentan los mismos eventos y tiempos del desarrollo cerebral con respecto al tiempo de gestación, nacimiento y periodos posnatales tempranos. Por todo lo anterior se considera que la rata es un buen modelo experimental para el estudio de la influencia de la malnutrición en el desarrollo del sistema nervioso central, y los resultados en los diversos estudios mencionados, nos permiten determinar las alteraciones conductuales y fisiológicas en un sistema vivo, y puede ayudar a comprender lo que pudiera suceder en los humanos en desarrollo bajo un régimen de malnutrición hipoproteínica (Figura 4).

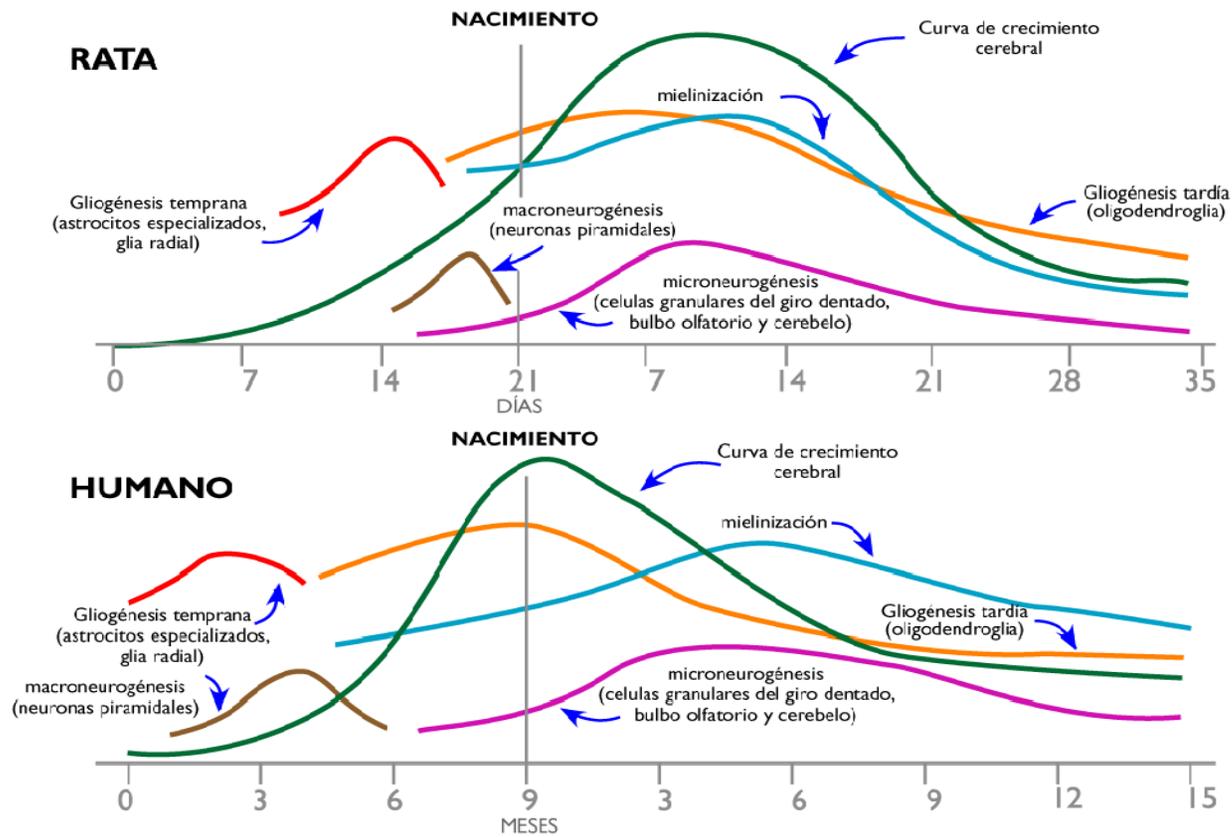


Figura 5. Curvas comparativas de velocidad, duración y tiempo de procesos específicos de desarrollo del cerebro en la rata y el humano. (Tomada de Morgane, 2002)

### La malnutrición y el Núcleo Supraquiasmático

Todos los organismos vivimos en un ambiente altamente cíclico por lo que contamos con un mecanismo adaptativo conocido como ritmicidad. Esta ritmicidad es controlada por un reloj biológico y varios osciladores que nos permiten tener una conducta predictiva y una respuesta fisiológica incluso antes de que se presente el estímulo ambiental.

En todos los mamíferos, el NSQ es considerado “el reloj maestro” ya que sus conexiones aferentes y eferentes se encargan de la generación y regulación de todos los ritmos biológicos incluyendo los procesos circadianos del organismo. Por otro lado, Forbes y sus colaboradores demostraron que la malnutrición afecta el sistema circadiano principalmente en la fase de ajuste a los sincronizadores ambientales. Encontraron que la malnutrición afecta drásticamente el ciclo sueño-vigilia; notaron que había una redistribución en el sueño REM durante el ciclo diurno, caracterizado por un decremento del tiempo total del sueño REM durante la fase de luz y un incremento durante la fase de oscuridad. Hall en 1978, reportó retrasos de fase en el ritmo de alimentación; tiempo después Cipolla-Neto y sus colaboradores (1987) describieron un decremento en la amplitud y el mesor de diferentes patrones conductuales inducidos por la malnutrición. En 1981, Hebert y sus colaboradores describieron que la malnutrición proteínica induce un decremento en la amplitud y retrasos de fase en el ritmo de melatonina plasmática en ratas. Aguilar Roblero en 1997, encontró que en el ritmo de ingesta de agua se reduce en animales malnutridos debido a la disminución de su peso corporal aproximadamente en un 66%. El mismo estudio reflejó que la malnutrición puede inducir a un desacoplamiento entre los osciladores del sistema ya que al exponer

a los animales malnutridos y controles a ciclos de oscuridad constante, los animales malnutridos muestran dos componentes de oscuridad de 12 horas con periodos endógenos distintos dividiendo su ritmicidad, que después convergen a un único componente con un periodo endógeno similar al de los controles. Este patrón de actividad es parecido a lo que se conoce como “splitting” o partición del ritmo. El splitting se considera como un reflejo de decremento en las fuerzas de acoplamiento entre los osciladores. Todos estos reportes sugieren que la malnutrición provoca la disminución de la expresión de ritmicidad circadiana en procesos tales como la sincronización con el ciclo de luz oscuridad, provoca la disminución del acoplamiento entre los osciladores y en la transmisión de la ritmicidad a los efectores (Aguilar Roblero y cols, 1997)

Dentro de la citoarquitectura del NSQ, la malnutrición induce a largo plazo un decremento del 25% en número y densidad celular del Péptido Intestinal Vasoactivo (VIP) y de la Proteína Fibrilar Ácida de la Glia (GFAP) comparado con los grupos control. Las células del Péptido Vasoactivo (VP) también se vieron reducidas en un 15% en número y densidad. Sólo las fibras aferentes se vieron menos afectadas por la malnutrición (Aguilar Roblero y cols, 1997).

Finalmente la malnutrición afecta en diferentes niveles la organización del sistema circadiano, ya sean bioquímicos, morfológicos y conductual, sin embargo la ritmicidad circadiana nunca se pierde y persiste por si misma indicando así la potencia y relevancia de este proceso para la sobrevivencia y adaptación de los organismos a su ambiente. Entonces, el animal malnutrido es capaz de exhibir ritmicidad circadiana aunque con una organización diferente con respecto a la de los animales controles.

### La formación hipocámpica y la malnutrición

La formación hipocámpica es un componente esencial del sistema límbico. Está compuesta por el hipocampo, la circunvolución dentada y el subículo, y está situada cerca del diencéfalo, una parte por debajo y la otra por arriba del cuerpo caloso neocortical. (Revisado en Kandel, 2005)

Entre sus funciones principales esta el procesamiento de información derivada a partir asociaciones polimodales entre cortezas; por lo que su influencia en áreas corticales y subcorticales modula complejos procesos conductuales como la consolidación de la información y la fijación de la memoria.

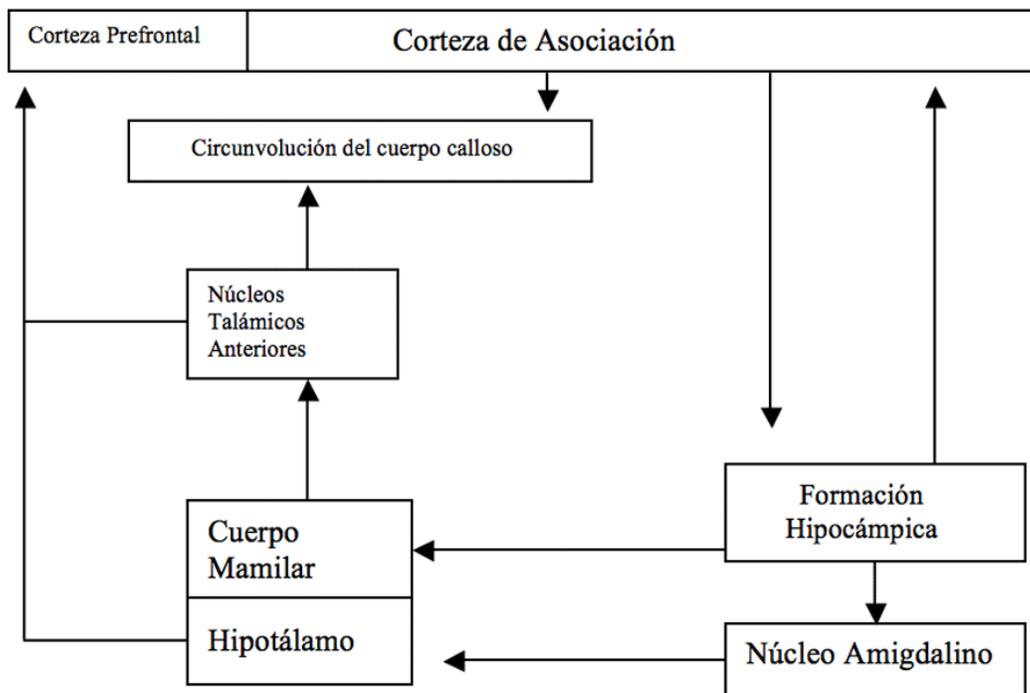


Figura 6. Circuito Nervioso del sistema límbico según Papez ampliada por Paul McLean (2005)

Estudios anatómicos han demostrado que existen amplias conexiones directas entre áreas de la neocorteza, la formación hipocámpica y el núcleo amigdalino. Otras fuentes indican que la formación hipocámpica es crucial para las formas cognitivas de almacenamiento de la memoria, siendo relativamente más importante en la representación espacial.

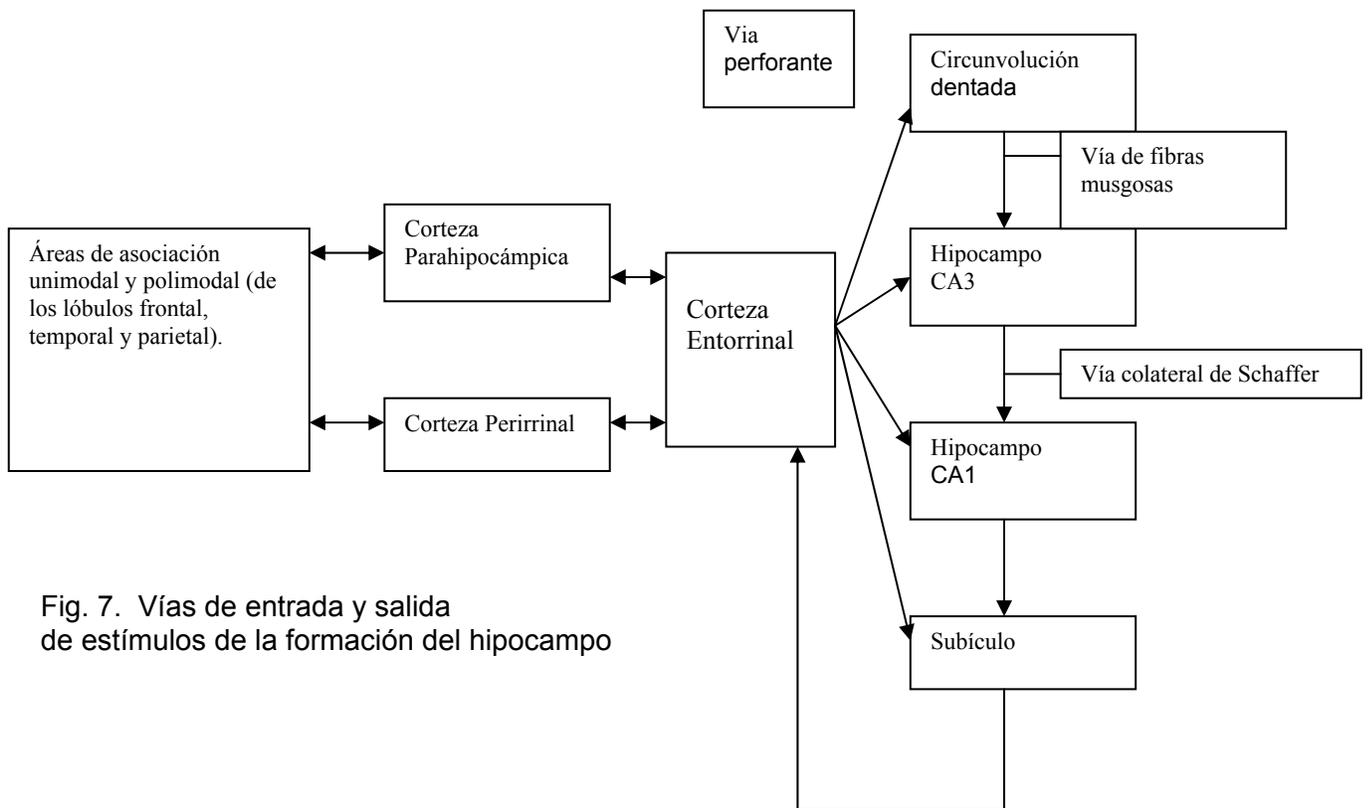


Fig. 7. Vías de entrada y salida de estímulos de la formación del hipocampo

Las lesiones del hipocampo en los ratones y las ratas, interfieren en la memoria para el espacio y el contexto, y células individuales lesionadas codifican información espacial específica. Las lesiones del hipocampo derecho causan problemas con la orientación espacial, mientras que las lesiones del hipocampo izquierdo producen defectos en la memoria verbal.

El hipocampo es una estación transitoria entre los pasos iniciales en el camino hacia el almacenamiento de la memoria a largo plazo (Revisado en Kandel 1999).

El hipocampo posee tres vías principales de aferencias basados en una serie de sinapsis secuenciales que liberan información en las siguientes direcciones:

1. La vía perforante, que se proyecta desde la corteza entorrinal para establecer conexiones excitadoras con las células granulosas de la circunvolución dentada
2. La vía de las fibras musgosas, que contienen los axones de las células granulosas y que se conectan a las células piramidales de la región CA3 del hipocampo
3. La vía colateral de Schaffer, que consiste en colaterales excitadoras de las células piramidales de la región CA3 y que se proyectan en las células piramidales de la región CA1

De esta manera concluye el circuito trisináptico el cual junto con las proyecciones neuronales de GABA y los circuitos interneuronales locales, parecen representar los procesos básicos que modulan a la formación hipocámpica (Morgane P.J. et al, 2002).

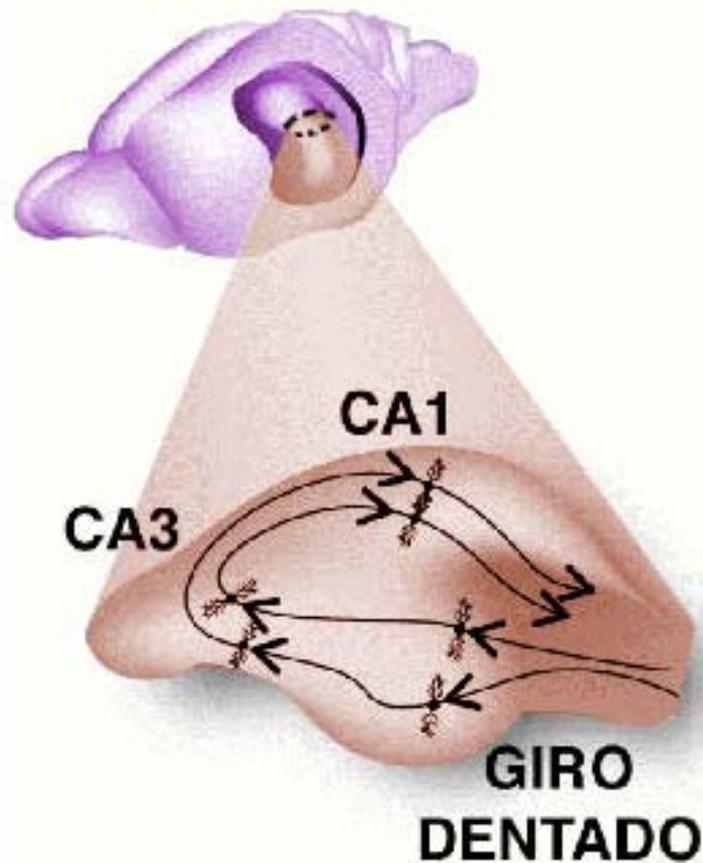


Figura 8. La formación Hipocámpica descansa sobre el lóbulo temporal y consiste de dos tiras de la corteza en forma de C entrelazadas, el giro dentado y el hipocampo, juntos con el subículo vecino. Las células Piramidales en el área CA1 están inervadas por la vía colateral de Schaffer. Las células granulares en el giro dentado están inervadas por la vía de las fibras perforantes desde el subículo e inervan también a las células CA3.

Se sabe que la Formación Hipocámpica se gobierna por la liberación de serotonina. Recientes estudios han demostrado que el insulto de la malnutrición altera las funciones en el Sistema de Entradas Extrínsecas Hipocámpicas, particularmente las entradas Serotoninérgicas. En general los sistemas de neurotransmisores Noradrenérgicos, Dopaminérgicos, GABAérgicos y

Colinérgicos, se ven afectados lo que provoca alteraciones graves en la modulación a largo y corto plazo en la neuroplasticidad.

En los animales malnutridos existe un decremento en la innervación de fibras Serotoninérgicas hacia la Formación Hipocámpica, lo que provoca que aumente la actividad inhibitoria de la Formación Hipocámpica, por lo que, se da una alteración en el flujos de la información dentro y a través del Circuito Hipocámpico, lo cual se puede traducir en términos de déficit en la inducción y mantenimiento de la potenciación a largo plazo y de déficit de aprendizaje en animales malnutridos. (Morgane J.P. 2005).

Se ha demostrado que la alteración en la plasticidad y en el procesamiento de información se ven perturbados por el insulto de la malnutrición y tales cambios están claramente relacionados con el aumento de la inhibición de la Formación Hipocámpica.

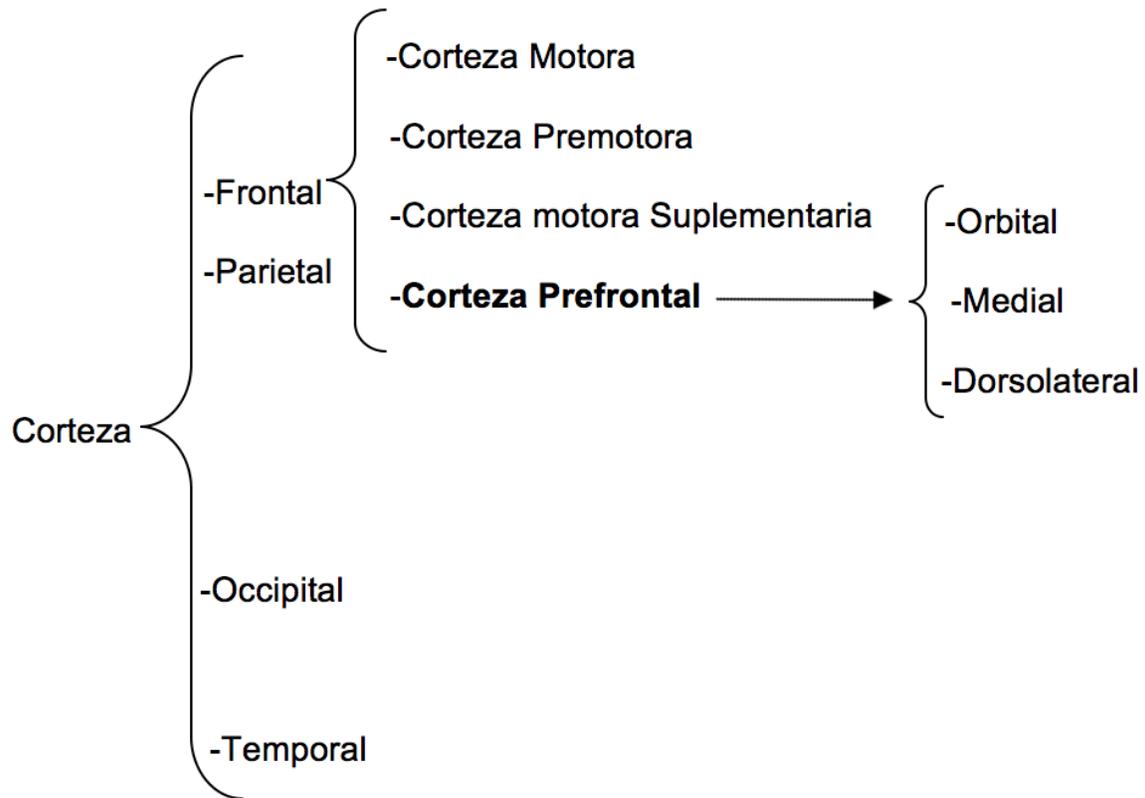
Las interneuronas GABAérgicas son esenciales para la organización del complejo conductual y los defectos de su funcionamiento provoca varias disfunciones en el desarrollo cognitivo y conductual (Morgane P.J., 2002).

Entonces, el hecho de que la malnutrición esté relacionada con el decremento en la plasticidad neurofisiológica durante el desarrollo cerebral puede estar provocando un gran déficit en el aprendizaje del individuo. La disminución de la plasticidad resulta en el incremento de la inhibición lo cual se ha considerado la principal patología en la formación hipocámpica asociada con la malnutrición.

## La corteza y la malnutrición

Desde un punto de vista conductual, la corteza prefrontal se considera la región cortical responsable de las más altas funciones cognitivas en humanos, tales como el pensamiento, toma de decisiones, juicio, razonamiento y acción.

La corteza suele dividirse de la siguiente manera:



Cabe destacar que la corteza prefrontal es la última parte de la corteza cerebral en madurar. Las lesiones de la corteza prefrontal orbital a menudo inducen a dramáticos cambios de personalidad, y reducen las inhibiciones y preocupaciones de los individuos volviéndolos indiferentes a la consecuencia de sus acciones. La corteza prefrontal medial parece estar involucrada en la motilidad

general, motivación, atención y emoción. Los individuos lesionados de esta parte de la corteza son apáticos, desinteresadas de su medio ambiente e incapaces de concentrar su atención en comportamientos o tareas cognitivas. La región dorsolateral provee el soporte cognitivo a la organización temporal del comportamiento, habla y razonamiento. Las lesiones en esta área hacen que los sujetos sean incapaces de elaborar planes y acciones secuenciadas.

Todas las regiones prefrontales reciben proyecciones desde el hipocampo ya sea directa o indirectamente (Revisado en Guevara Pérez M.G., 2004).

Hasta la fecha existe suficiente evidencia experimental que indica que tanto la corteza prefrontal como el hipocampo están implicados en los procesos de memoria y aprendizaje. Además, la corteza prefrontal está involucrada en funciones cognoscitivas superiores tales como la memoria de trabajo.

Las tareas de orientación espacial, (procesos de reconocimiento espacial, aprendizaje, memoria espacial y planeación de trayectoria de un lugar a otro), son codificadas principalmente por el sistema hipocámpico, por la corteza parietal y por la corteza prefrontal. (Revisado en Guevara Pérez M.G., 2004).

Experimentalmente, se ha demostrado que lesiones de la corteza prefrontal producen deficiencias en tareas de aprendizaje espacial, como las de aprendizaje adyacente en laberinto radial y laberinto acuático de Morris.

Con respecto a la participación de la corteza prefrontal en el aprendizaje, Kesner y colaboradores demostraron (1996) que la corteza prefrontal medial es necesaria para el establecimiento de memoria de trabajo para la información espacial de respuesta. La corteza frontal esta en estrecha interacción funcional con estructuras límbicas, tal como el núcleo amigdaloides y la formación

hipocámpica y las conexiones entre estas áreas pueden ser directas o indirectas a través del núcleo dorsomedial del tálamo definiendo así la región de la corteza prefrontal (Revisado en Guevara Pérez M.G., 2004).

Los efectos que la malnutrición proteínica causan en el desarrollo del sistema nervioso central han sido estudiados a nivel anatómico, neuroquímico y conductual. Con respecto a la corteza se ha encontrado mediante registros electroencefalográficos (EEG) retrasos en su maduración. Se ha visto también que en las respuestas de evocación tienden a exhibir largas latencias en los sistemas sensoriales y no sensoriales. Con respecto a la excitabilidad cortical se han encontrado una disminución en la capacidad de las neuronas para continuar con estimulación de repetición, además del incremento en la susceptibilidad a enfermedades. En general, todas las medidas electrofisiológicas tienden a disminuir por el efecto que provoca la malnutrición proteica prenatal y post-natal (Stern, et al, 1984).

El mayor efecto producido por la malnutrición durante el desarrollo de la corteza frontal son las alteraciones provocadas en la tasa de descargas espontáneas, siendo estas mucho más lentas que en los animales controles. Además también se ha reportado que los animales malnutridos presentan un adelgazamiento cortical de aproximadamente 1.5 mm debido a la reducción de tejido en los procesos histológicos (Stern, et al, 1984).

Existen estudios que comprueban que la malnutrición ya sea en periodos prenatales, posnatales o crónicos, provoca el decremento en el porcentaje de sinapsis entre neuronas y el decremento en el número y extensión de espinas dendríticas en la corteza de las ratas con malnutrición proteínica, produciendo

particularmente alteraciones en las entradas sinápticas, especialmente en las entradas hacia las células piramidales de la corteza (Stern, et al, 1984).

### *El proceso de Atención*

La atención es de gran relevancia en las relaciones interpersonales y con el medio en el que vivimos. Nuestro cuerpo está programado para dirigir la atención hacia estímulos novedosos que en un momento determinado pueden representar peligro o eventos relevantes para el organismo. La atención es el proceso cognoscitivo más básico a nivel de entrada y procesamiento de información y es fundamental para que otros procesos como el aprendizaje, la memoria, el lenguaje y la orientación, entre otros, se lleven a cabo. De manera recíproca, al menos en una parte, estos procesos participan y determinan, la forma en la que percibimos y atendemos a los estímulos internos y externos.

El medio que nos rodea está repleto de estímulos sensoriales que bombardean al sistema nervioso; sin embargo, no todos tienen el mismo efecto y más bien unos resaltan sobre los demás. La atención implica una orientación hacia un estímulo en tanto que se ignoran los demás (revisado en González Garrido, A., 2006) .

Entonces, en pocas palabras, atender consiste en focalizar selectivamente nuestra conciencia, filtrando y desechando información no deseada. Implica percepción selectiva y dirigida, interés por una fuente particular de estimulación y esfuerzo, o concentración sobre una tarea. Sin atención, nuestra percepción, memoria y aprendizaje no tienen lugar o se empobrecen. (Estévez-González, A., et.al. 1997).

*Los cuatro tipos de atención más estudiados son:*

- 1. La atención voluntaria o involuntaria y el nivel de alertamiento es una forma de atención requerida para mantener el estado de vigilia y responder a la estimulación externa.*
- 2. La atención selectiva, la identificamos como la acción de inhibir estímulos irrelevantes, pero las características que le confieren la “relevancia” a un estímulo pueden cambiar de un momento a otro, por lo que debemos considerar que los sistemas atencionales permiten anticipar la respuesta a un evento futuro, previniendo los esquemas o respuestas más apropiadas a la tarea que se va a desempeñar según el conocimiento que se tiene de la misma.*
- 3. La atención sostenida, donde el nivel de alertamiento tiene un efecto directo en la capacidad de mantener la atención por periodos largos.*
- 4. La atención dividida es aquella atención destinada simultáneamente a dos o más fuentes de estímulos, lo cual implica la necesidad de efectuar un procesamiento de información en paralelo.*

El procesamiento de la atención está íntimamente relacionado con procesos sensoriales, motores, cognoscitivos y emocionales que le permiten al organismo proponer estrategias de sobrevivencia y aprendizaje de las experiencias en el largo plazo. Los diferentes subprocesos implicados en cada una de las funciones cognoscitivas y emocionales deben establecer una relación organizada espacial y temporal y al mismo tiempo integrarse dentro de este complejo emoción – cognición para dar lugar a una experiencia consiente, coherente y unificada que

lleve a una conducta socialmente adaptativa. Es ampliamente sabido que se recuerda mejor aquello en lo que se pone más atención, y las emociones pueden redirigir la atención hacia un estímulo importante (Gómez Velásquez et al. 2004)

En la interacción de los organismos con el medio en el que viven pueden observarse un conjunto de respuestas, cuyas características varían según el papel que éstas juegan en los procesos adaptativos. De manera progresiva por un proceso de aprendizaje, el organismo adquiere conciencia de sí y de los estímulos provenientes de su entorno. Se percibe sólo aquellos estímulos que han ganado importancia para el organismo. (revisado en González Garrido, A., 2006).

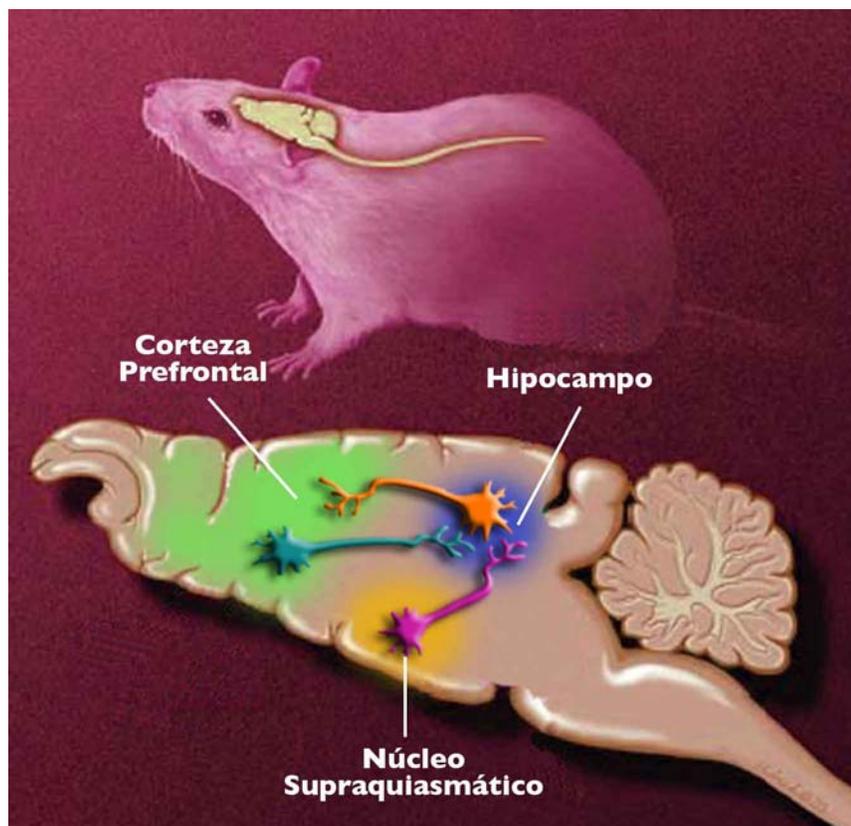


Figura 9. Interrelación de algunas estructuras cerebrales involucradas en el proceso de atención y su ritmo biológico.

### Estructuras Cerebrales Involucradas en el proceso de Atención

Cada uno de los procesos que forman la atención se sustentan en la acción coordinada de las diferentes regiones cerebrales, y cada una de las estructuras que constituyen estas redes neuronales presentan mecanismos neurofisiológicos diversos.

De modo sintético, la atención está integrada por componentes perceptivos, motores y límbicos, por lo que la neuroanatomía y neurofisiología de la atención se asentarían en el sistema reticular activador, tálamo, sistema límbico, ganglios basales (estriado), corteza parietal posterior y corteza prefrontal.

La atención es el resultado de una red de conexiones corticales y subcorticales de predominio derecho, posiblemente a través de vías noradrenérgicas. (Estévez-González, A., et.al. 1997).

### Técnicas conductuales para analizar el proceso de atención

#### **Los laberintos**

Miles de estudios han examinado como las ratas corren y se comportan en diferentes tipos de laberintos, desde el T-maze hasta los laberintos con brazos radiales. Estos métodos son usados para estudiar el aprendizaje espacial y la memoria en las ratas. Los estudios en laberintos ayudan a descubrir los principios generales sobre el aprendizaje que pueden ser aplicados para muchas especies, incluyendo los humanos. Hoy en día, los laberintos son usados para determinar cualquier tratamiento o condición diferentes que afecten el aprendizaje y la memoria en las ratas.

Las ratas son particularmente inteligentes para recorrer cualquier laberinto. Esta habilidad viene a partir de toda su historia evolutiva: las ratas son pequeños roedores que presentan hábitos de excavación tanto para la formación de madrigueras para sus crías, como para encontrar rutas de salida en túneles subterráneos o simplemente para buscar alimento.

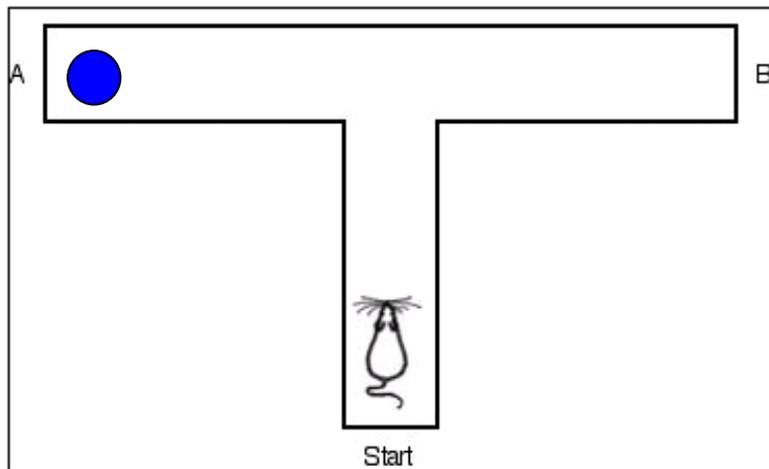
Aunque los laberintos a simple vista pueden parecer muy simples para el humano, ya que tenemos la habilidad de subir y bajar la vista, la rata no puede ver las cosas completas puesto que solo ve hacia enfrente, hacia atrás y hacia cada uno de sus lados.

### **Pruebas de discriminación**

Existen distintos tipos de laberintos de los cuales todos se inclinan a contestar preguntas respecto al aprendizaje y memoria en la rata. Según el modelo experimental a usar se escogerá el laberinto que mejor conteste a las preguntas planteadas.

A continuación hablaremos de las características principales del T-maze:

<u>LABERINTO</u>	<u>DESCRIPCION</u>	<u>FUNCION</u>	<u>OBJETIVO</u>
<b>EN FORMA T (T-maze)</b>	Este laberinto esta en forma de una T	El animal comienza en la base de la T. Una recompensa puede estar en uno de los brazos del laberinto, o puede haber diferentes recompensas en cada brazo. La rata caminara hacia adelante para escoger el brazo derecho o izquierdo del laberinto	Con este laberinto podemos contestarnos varias preguntas, como saber si la rata es diestra o zurda, sabremos cual es su lado natural preferencial. También se puede estudiar la alternancia que presenta la rata durante su recorrido en diferentes ensayos sin recompensa. También es usado para el estudio del aprendizaje con pruebas simples como encontrar comida o agua. Este laberinto se utiliza también para conocer las preferencias del animal, el laberinto tiene dos brazos por lo que se le ponen dos opciones a escoger y conocer así las preferencias del animal.



**Figura 10. Esquema del laberinto en T. El punto oscuro indica un recipiente con agua**

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Sabemos que todos los organismos interactuamos de manera directa con nuestro medio ambiente. Los ritmos biológicos en todos los mamíferos son el resultado de mecanismos adaptativos internos que nos ayuda a responder de manera adecuada y predictiva a un ambiente externo oscilante. Sin embargo, para dar una respuesta correcta según nuestras necesidades ambientales, necesitamos un óptimo estado morfológico, fisiológico y conductual, abarcando en este último varios procesos cognitivos como la atención, la memoria y el aprendizaje. Todos los organismos estamos expuestos a diferentes factores externos nocivos (alcohol, drogas, malnutrición, etc.) que pueden instalarse en cualquier etapa de nuestra vida, desde la gestación y durante todo nuestro desarrollo, y provocar severos daños a nivel de sistema nervioso central, alterando de esta manera todos los circuitos neuronales y facilitar una mala adaptación al medio ambiente.

La malnutrición hipoproteínica prenatal, post natal y crónica es un factor primario no genético que afecta el desarrollo del cerebro, al grado de alterar la habilidad de los organismos de interactuar con el ambiente. Alrededor del mundo existen 800 millones de personas que sufren de malnutrición, donde más de la mitad son niños menores de 5 años, que revelarán grandes diferencias a largo plazo en toda su conducta. La malnutrición es ya un grave problema a nivel mundial, con efectos irreversibles. En animales, las crías de ratas malnutridas durante su periodo gestacional, muestran un comportamiento anormal, el cual persiste hasta la edad adulta. La malnutrición interfiere con el porcentaje de la disposición celular, encontrándose déficit de procesos difusos como la atención, memoria y aprendizaje.

El propósito de éste estudio es evaluar los daños que la malnutrición hipoproteínica produce en diferentes fases del desarrollo durante la ciclicidad del proceso de atención en ratas de 90 a 120 días de edad en el momento de la gestación (pre natal), al nacer (post natal) y en ambos periodos (crónica), por medio de una prueba conductual conocida como laberinto T-maze. Con los resultados de ésta prueba, conoceremos en qué momento del desarrollo la malnutrición afecta de manera más drástica los procesos de atención.

## **HIPÓTESIS**

- Si la malnutrición, ya sea prenatal, post-natal o crónica afecta en diversas formas el desarrollo del Sistema Nervioso Central, alterando estructuras importantes que participan en los procesos conductuales y fisiológicos, tales como la Formación Hipocámpica, la Corteza Pre frontal y el NSQ, presentando así daños ya sea en el sistema homeostático o en el circadiano, entonces, se espera que la ciclicidad en los ritmos diarios de atención se vea alterado de diversas formas en términos del tiempo y el estado del desarrollo en que se presente el insulto de la malnutrición.

## **OBJETIVO GENERAL**

- Conocer los efectos de la malnutrición hipoproteínica pre natal, post natal y crónica en la comparación diaria de los procesos circadianos de atención en la rata adulta Sprague-Dawley.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Saber si los procesos de baja atención en los animales malnutridos se deben a un desacoplamiento entre el momento de alerta y el ciclo de sueño-vigilia o a la alteración cerebral que sufren por su estado de malnutrición
- Conocer el momento de mayor atención en las ratas control y saber en que fase del desarrollo la malnutrición afecta de manera más drástica este proceso cognoscitivo.
- Determinar cuál es el tipo de malnutrición que muestra un mayor y menor efecto sobre la prueba.
- Obtener la curva de atención diaria entre las ratas normales (Co), Malnutridas Pre-natales (MPr), Post natales (MPt) y crónicas (MCr) y establecer las semejanzas y diferencias de su curva de atención diaria.
- Analizar la conducta de cada grupo malnutrido durante la realización de la prueba en el laberinto T.
- Comparar y analizar los resultados de los 4 grupos.

## **MATERIAL Y METODO**

### ANIMALES

Se utilizaron 40 ratas macho Sprague – Dawley de 90 a 120 días de edad divididas en 4 grupos experimentales, cada grupo constituido por 10 ratas:

a) Control (Co), b) Malnutrido prenatal (MPr), c) Malnutrido post – natal (MPt) y c) Malnutrido crónico (MCr).

Los animales fueron mantenidos desde su nacimiento y a lo largo de su desarrollo a temperatura ambiente, entre 20 y 24 °C, con un fotoperiodo de 12 hrs de luz y 12 de oscuridad (la luz se encendía a las 8:00 hrs y se apagaba a las 20:00 hrs), durante la fase de oscuridad se utilizó una luz tenue roja como fondo para facilitar la realización de la prueba en dicha fase.

Todas las ratas fueron diestras con el objetivo de que su lateralidad no pudiera influir en los resultados de este estudio debido a la diferenciación funcional hemisférica. Su lateralidad se determinó mediante el método de Afonso y cols. (1993)

### MÉTODO DE MALNUTRICIÓN

Para obtener los grupos de estudio se emplearon 4 grupos de ratas de la cepa Sprague-Dawley hembras (250-300gr.) que fueron alimentadas *ad libitum*, 3 grupos en una dieta de 6% de caseína (malnutridas), y el otro en una dieta de caseína al 25% (controles), durante 5 semanas previas al apareamiento, la gestación y la lactancia. Es importante mantener este periodo con el propósito de restablecer el equilibrio metabólico impuesto por la dieta hipoproteínica antes de la gestación, para asegurar que el daño que está sufriendo el feto sea específico, dado que la madre no puede amortiguar totalmente los efectos de la malnutrición. Machos de la misma cepa fueron aclimatados con las dietas experimentales de las hembras 7 días antes del apareamiento, cada macho se apareó con 2 hembras recibiendo el mismo tratamiento proteínico durante el mismo tiempo, la presencia de espermatozoides en el frotis citológico vaginal determinó si el apareamiento había ocurrido. Una semana antes de la fecha de nacimiento las hembras fueron

separadas individualmente en cajas de policarbonato en espera del parto. Después del nacimiento, se formaron los cuatro grupos empleados en el presente estudio:

- **Grupo Co**, 25/25 o control. Son crías de madres normales a las que al nacer se les coloca a una madre nodriza también normal. Estas crías se alimentan después del destete con una dieta normal (25% de caseína).
- **Grupo MCr**, 6/6 o crónico. Son crías de madres malnutridas que al nacer son alimentadas por una madre nodriza también malnutrida, ambas continúan con una dieta baja en proteína (6% de caseína) después del destete.
- **Grupo Mpr**, 6/25 o malnutrido pre-natal. Son crías de madres malnutridas que al nacer son transferidas a una madre nodriza normal y su alimento después del destete es con una dieta normal (25% caseína).
- **Grupo Mpt**, 25/6 o malnutrida post-natal. Son crías de madres normales que al nacer se les cambio la madre por una nodriza malnutrida y después del destete fueron alimentadas con una dieta baja en proteína.

El destete se lleva a cabo al día 21 post natal, y las ratas de cada grupo mantuvieron las dietas durante y después del experimento (Ver diagrama 1). No olvidemos que todos los grupos se formaron realizando un intercambio entre las crías recién nacidas (cross-foster). El cross-foster se realiza al día siguiente del parto entre las camadas que nacieron el mismo día y de la misma dieta nutricional,

se sexan y se mezclan entre sí, cambiando así de madres y hermanos con el objetivo de controlar todas las variables posibles.

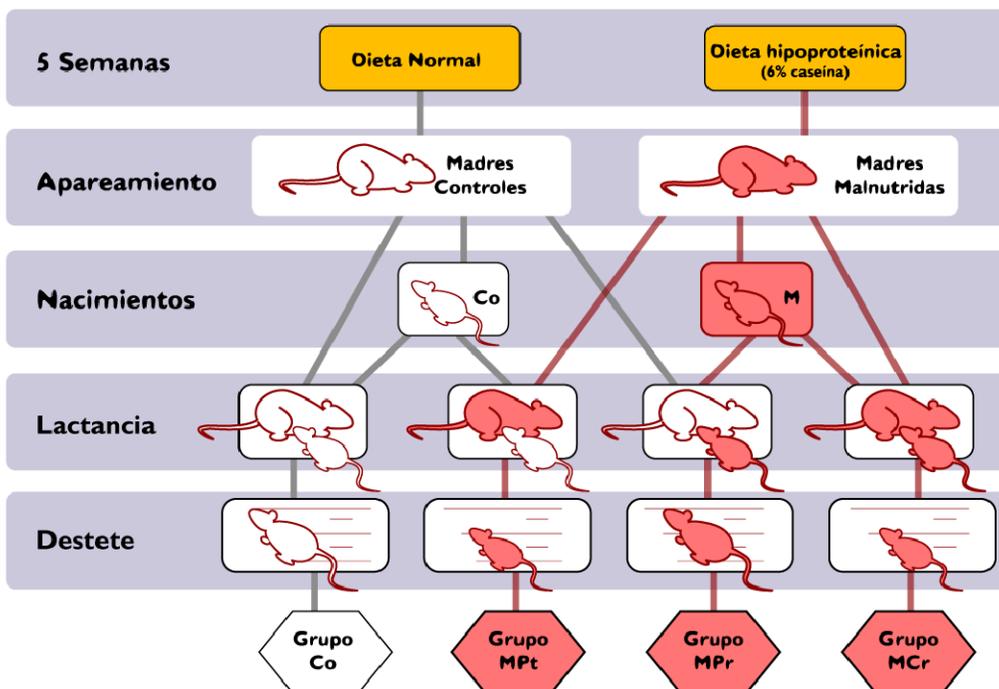


Diagrama 1. Se muestra el procedimiento malnutrición y la obtención de los grupos Co=controlados, MPT=malnutridos post natalmente, MPr=malnutridos prenatalmente, MCr=malnutridos crónicos. n=8 crías por camada (Tomada y modificada de Durán, 2000)

### DIETAS

La malnutrición hipoproteínica se realizó de acuerdo al modelo empleado por Morgane y cols., (1978) el cual consiste en dietas con un contenido proteínico variable, dieta control de caseína, dieta experimental 6% de caseína como se muestra en la tabla de abajo. Las dietas de caseína son adicionadas con l-metionina (0.4%) debido a que carecen de este aminoácido esencial. Tanto el fosfato de calcio monobásico (0.6%) como el carbonato de zinc (0.001%) fueron adicionados a la mezcla de sales de esta dieta para mantener estos minerales en

los niveles encontrados en otras dietas. Los grupos Co y MPr empleados en el experimento fueron alimentados con una dieta básica comercial de caseína (LabDiet } Purina Mills, Inc), (Duran, 1995).

### COMPOSICION NUTRICIONAL DE LAS DIETAS

COMPONENTES	DIETA CON 6% DE PROTEINA	DIETA COMERCIAL
proteína %	5.3	23.4
Grasa %	15.0	10
Carbohidratos%	68.9	52.4
Mezcla de Sales%	4.0	6.9
Mezcla de Vitaminas%	1.0	2.0
Agua%	1.2	
Elemento no – nutritivo%	4.2	5.3
Colorante%	0.33	-
Energía (kcal/g)	4.3	4.0

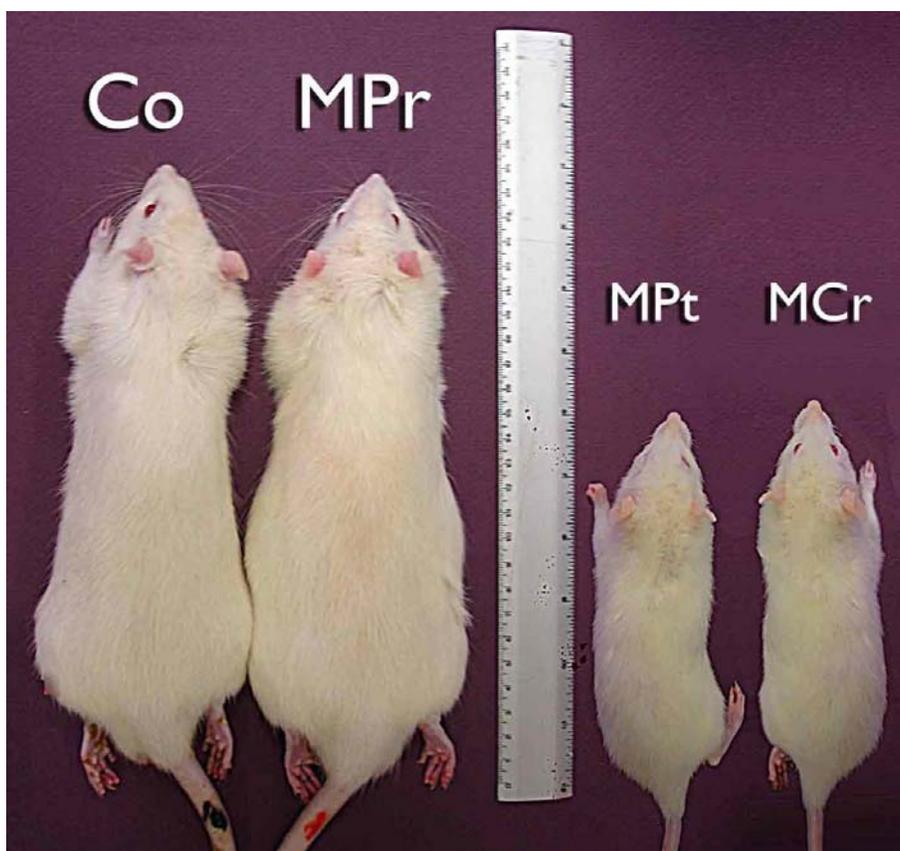


Figura 11. Ejemplares de ratas de la cepa Sprague-Dawley de 90 días de edad, uno de cada uno de los grupos experimentales. Obsérvese la reducción en la talla corporal en el MCr y el MPt, mientras que el MPr y Co no presentan diferencias aparentes. Co=control, MPr=malnutrido prenatal, MPt= Malnutrido Post-Natal y MCr=malnutrido crónico.

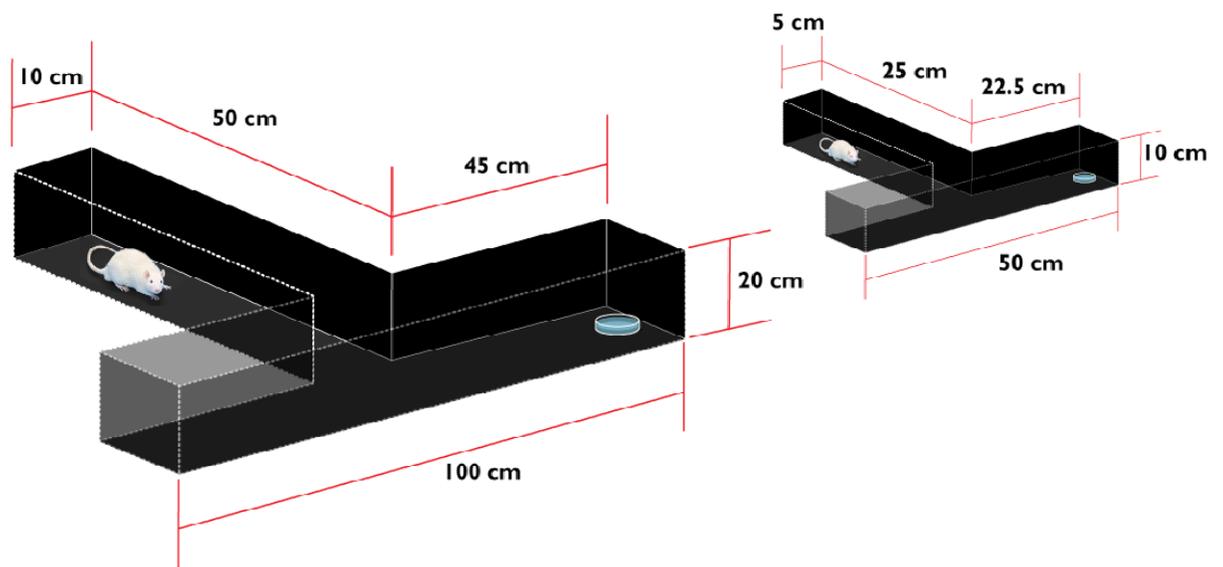
## PROCEDIMIENTO DE REGISTRO

Empleamos 40 ratas Sprague-Dawley machos de 90 a 120 días de edad (se considera este lapso como la edad adulta) divididas en 4 grupos:

Grupo 1 10 ratas Co  
Grupo 2 10 ratas MPr  
Grupo 3 10 ratas MPt  
Grupo 4 10 ratas MCr

A cada grupo se le aplicó una prueba conductual realizada en un laberinto en T (T-maze) en cierto orden para explorar las variaciones diarias en el proceso de atención. El laberinto en T se utiliza para responder preguntas conductuales simples, por ejemplo, saber si es zurda o diestra, para hacer pruebas de memoria, pruebas de aprendizaje simples como sería encontrar comida o agua, o simplemente saber algunas preferencias del animal por ejemplo en su alimentación, en olores, etc. (Mistlberger, 1996, en Matthew et al 2004) falta ponerlos al final.

Como las tallas corporales de los grupos era distinta, siendo tallas normales en los grupo MPr y Co pero más pequeñas en los grupo MPt y MCr (Durán 1999,), se utilizaron dos medidas distintas de laberinto T, una pequeña para las ratas de menor talla y la otra con el doble de las medidas para las ratas de talla normal.



Cada animal fue sometido a la prueba cada 2 horas durante un ciclo completo de Luz/Oscuridad, privándolas de agua 12 hrs. antes y durante la prueba. Cuando la prueba se llevaba a cabo en la fase oscura, se utilizó una luz roja tenue como fondo en el cuarto de observación; de esta manera los animales nunca fueron expuestos a luz brillante durante la fase de oscuridad del ciclo. Cada rata realizó los 10 ensayos por lo menos 24 hrs después de la prueba final. La privación de agua era necesaria, ya que el agua es la motivación de cada animal en las pruebas. Cada rata realizaba 10 ensayos y una prueba final con la cual mediamos la eficiencia del aprendizaje. Durante cada ensayo uno de los brazos del laberinto tenía la recompensa, que en este caso era una caja de petri con agua, encontrándose siempre en el mismo brazo durante los 10 ensayos, alternándolos de rata en rata; es decir, si la rata 1 tenía la recompensa en el brazo

derecho, la rata 2 lo tenía en el brazo izquierdo, y en la prueba final no hubo recipiente. Si durante alguno de los ensayos la rata escogía el brazo correcto (donde estaba la recompensa) no se le permitía tomar agua, se sacaba inmediatamente y se tomaba el tiempo que le llevo encontrar la recompensa. La prueba final era aprobada solo si la rata se iba al brazo en donde estuvo la recompensa durante todos los ensayos. Cada ensayo duraba máximo 60 segundos y se realizaba cada 30 segundos, este tiempo se utilizaba como descanso de la rata. Durante este tiempo se regresaba al animal a la caja de policarbonato y se limpiaba el laberinto de cualquier bolo o micción que la rata hubiera dejado. Después de cada ensayo y de cada rata, el laberinto en T se limpiaba completamente (base y paredes) con una solución de cloro diluida al 3%, de forma tal que se eliminara cualquier tipo de olor previo al ensayo. La eficiencia final fue considerada como la cantidad de tiempo que el animal gasto en encontrar el brazo que contenía la recompensa.

Es importante mencionar que se tomaron 3 medidas durante cada ensayo: (1) la latencia inicial, que es el tiempo en que tarda en salir a explorar y que indica la ansiedad de la rata; (2) la latencia de escape que es el tiempo que gasta explorando el nuevo ambiente y que se interpreta como la impulsividad del animal; y por último (3) la latencia de búsqueda, que es sólo el tiempo que gastó en escoger el brazo derecho o el izquierdo. La latencia es el tiempo que usa la rata en cualquiera de sus conductas.

Además de esto, se anotó a que brazo se iba la rata en cada ensayo para tener un registro de si la prueba fue exitosa o no. También se tomo nota de los

bolos y micciones en cada prueba, que nos indica la cantidad de estrés que la rata presentaba en cada ensayo.

## **ANÁLISIS DE DATOS**

Los resultados fueron analizados con una prueba estadísticamente confiable llamada COSANA (Benedito-Silva, 1996), la cual nos permite analizar ritmos que no presentan una frecuencia marcada, ajustando mediante senos y cosenos una sinusoidal que permite calcular la acrofase, el mesor (valor promedio de la amplitud), el porcentaje de ritmicidad y el valor de P, que en términos estadísticos nos determina que si  $P < 0.05$  es más confiable el valor que estudiamos (% de eficiencia). Cada uno de estos parámetros se obtuvo con cada animal y después se hizo un promedio por grupo. Se ajustó la curva del porcentaje de eficiencia de la atención con el promedio de la prueba final por cada grupo. Se sacó el promedio de las acrofases y los porcentajes de ritmicidad arrojados por COSANA para cada una de las latencias y se graficaron de manera separada. Las diferencias significativas fueron determinadas por medio de una ANOVA y una t- de Student. Se graficaron también el promedio de los casos estadísticamente significativos con  $P < 0.005$ .

En lo que respecta a las pruebas conductuales, éstas fueron analizadas por la estadística tradicional y los promedios por grupo fueron separados en término de horas del día, dividiéndolos en tres grupos: Mañana, Tarde y Noche. Las diferencias significativas se obtuvieron por medio de la t de Student.

## RESULTADOS

### I Eficiencia de aprendizaje

#### GRUPO CONTROL

Todos los animales del grupo control mostraron una ritmicidad diaria en la eficiencia de aprendizaje. La figura 1, muestra el perfil duplicado en 48 horas, del promedio ( $\pm$ ES) del porcentaje de eficiencia en aprendizaje. Se anexa además, la curva calculada por el ajuste del análisis de COSINOR (línea gris). Se observa que existe una clara ciclicidad en la cual, los valores más altos de eficiencia se observan durante el periodo de oscuridad. Los datos promedio indican que los valores más altos se presentaron poco después del apagado de la luz.

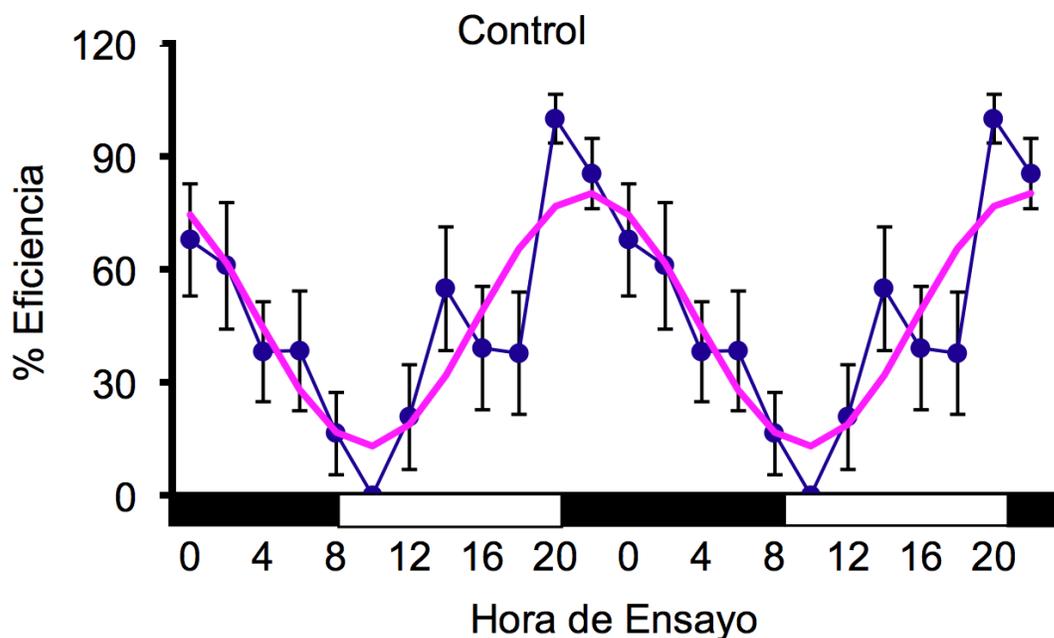


Figura 1. Variaciones del promedio  $\pm$ ES del % de eficiencia de aprendizaje, en animales del grupo control (25/25). La línea continua representa el ajuste por COSINOR.

## GRUPO MPt

Este primer grupo de malnutridos (n=10), no muestra ciclicidad diaria en la eficiencia de aprendizaje. La figura 2 está representada en un esquema de 24 horas donde se observa la curva calculada por COSINOR (línea continua) resultante del promedio ( $\pm$ ES) de la prueba final del porcentaje de eficiencia del aprendizaje. A pesar de no mostrar ritmo, muestra un muy tenue valor máximo que alcanza a darse todavía en la fase oscura. En general, no hay un punto de atención bien definido, sin embargo, la línea no decae de un 40% de eficiencia ( $\pm$ ES), lo que indica que en ninguna fase del día presenta cambios.

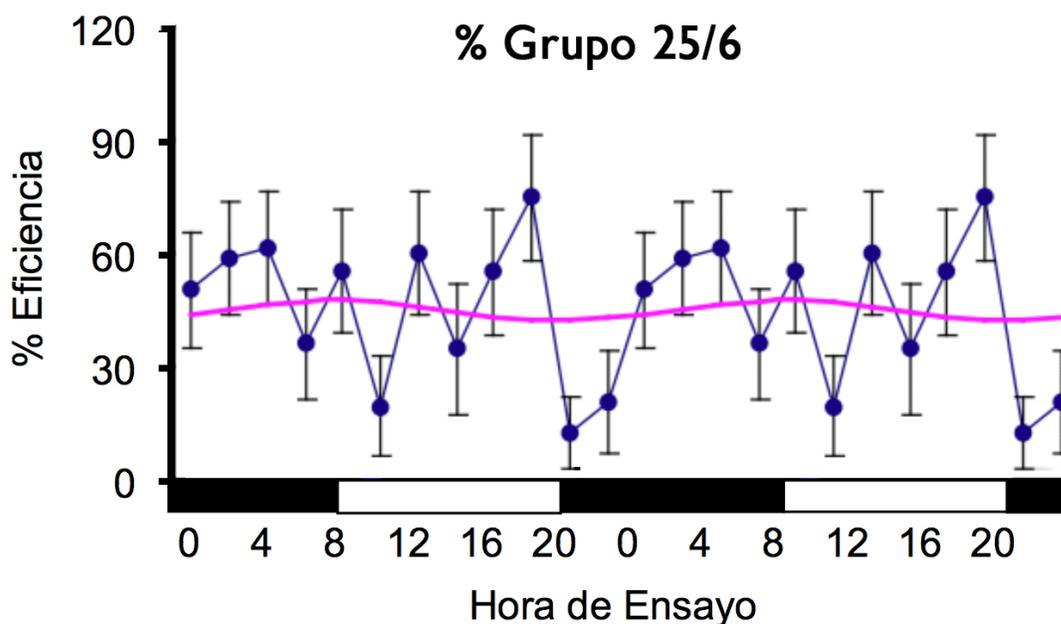


Figura 2. Variaciones del promedio  $\pm$ ES del % de eficiencia de aprendizaje, en animales del grupo malnutrido post-natal (25/6). La línea continua representa el ajuste por COSINOR.

## GRUPO MPr

Este grupo compuesto por una  $n=10$ , muestra una ritmicidad diaria en su eficiencia de aprendizaje menor a la del grupo control y mayor que la del grupo malnutrido post-natal. La figura 3 se muestra también en un perfil de 24 hrs. La curva calculada por el ajuste de COSINOR (línea continua rosa) nos permite observar que hay un ritmo limpio y claro pero a diferencia del grupo control, los valores más altos están por debajo del 40% de eficiencia. Aunque estos caen de igual manera en la fase oscura, los valores más altos caen al final de la fase oscura, cerca del encendido de la luz, en contraste de los controles que sus puntos más altos caen poco después del apagado de la luz. A pesar de que muestran el mismo rango de eficiencia que el grupo malnutrido post-natal, éste presenta un mayor porcentaje de ritmicidad ( $\pm$ ES).

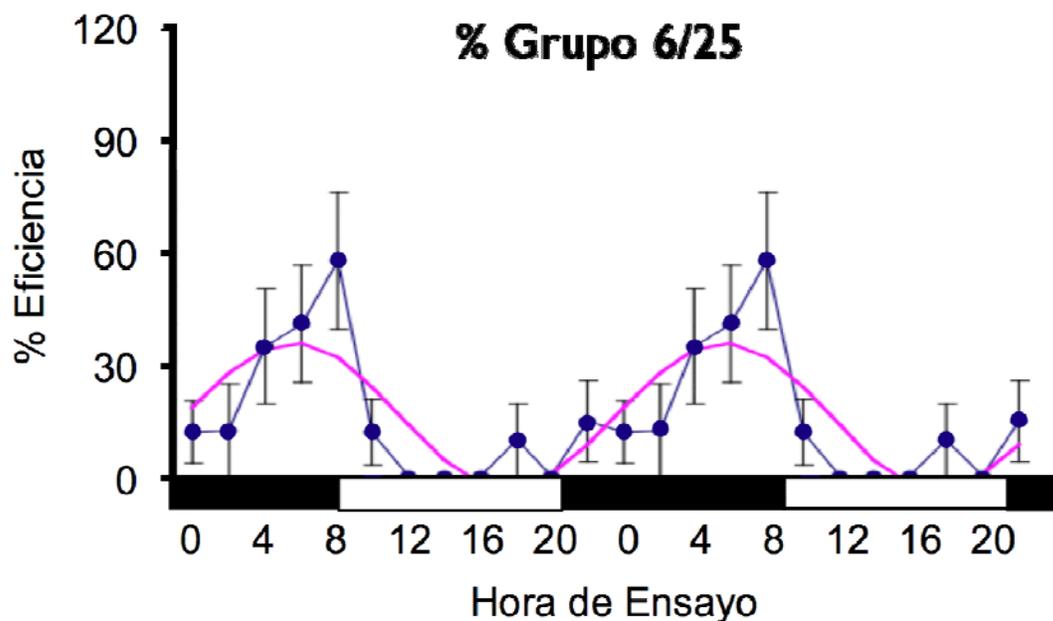
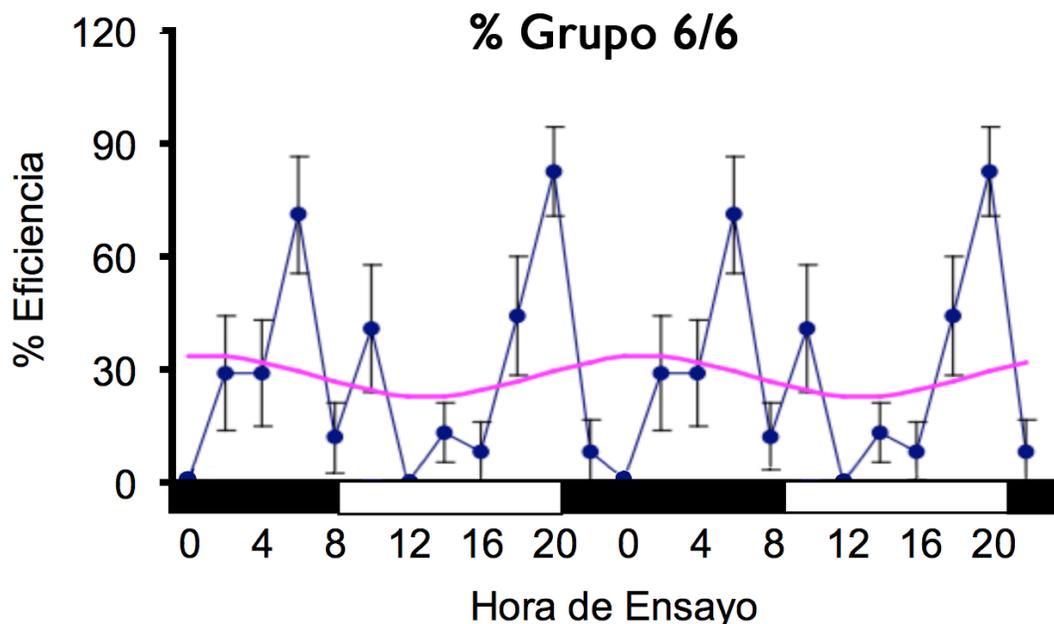


Figura 3. Variaciones del promedio  $\pm$ ES del % de eficiencia de aprendizaje, en animales del grupo malnutrido pre-natal (6/25). La línea continua representa el ajuste por COSINOR.

## GRUPO MCr

Los animales del grupo crónico, (n=10), muestran una baja ritmicidad diaria en su eficiencia de aprendizaje, un poco mayor que la del grupo post-natal pero con mucha diferencia entre los grupos control y pre-natal ya que es mucho menor. En la figura 4 se muestra la grafica con el promedio ( $\pm$ ES) del porcentaje de eficiencia en aprendizaje igual que en las figuras anteriores con un perfil de 24 hrs. Su curva COSINOR (línea continua rosa) muestra que el ritmo a pesar de no ser muy fuerte tampoco se pierde. Este grupo particularmente muestra dos picos donde caen los valores mas altos de su eficiencia, uno lo presenta en la fase oscura y el otro en la diurna. Este grupo al igual que todos los malnutridos muestra la mitad de eficiencia del promedio ( $\pm$ ES) aprendizaje, además de una baja ritmicidad, mayor a la del grupo malnutrido post-natal y menor a la del grupo pre-natal y control



Figur a 4. . Variaciones del promedio  $\pm$ ES del % de eficiencia de aprendizaje, en

animales del grupo malnutrido crónico (6/6). La línea continua representa el ajuste por COSINOR.

## II. Diferencias en Acrofases y en porcentaje de ritmicidad

### ACROFASES EN PRUEBA

Las acrofases promedio  $\pm$ ES calculadas mediante el cosinor para cada grupo revisado se muestran en la figura 5. Las acrofases para los controles se ubicaron en  $9 \pm 1$ . Para los animales del grupo 25/6 fue de  $14 \pm 1$ , mientras que los del grupo 6/6, fue de  $11 \pm 1$ . Finalmente los animales del grupo 6-25 tuvieron su acrofase de  $13 \pm 1$ . Los grupos que al ser comparados mostraron diferencias significativas fueron el 25-25 contra el 6-25 y diferencias marginalmente significativas fueron entre el 25-25 contra el 25-6 ( $p < 0.05$ , t de Student).

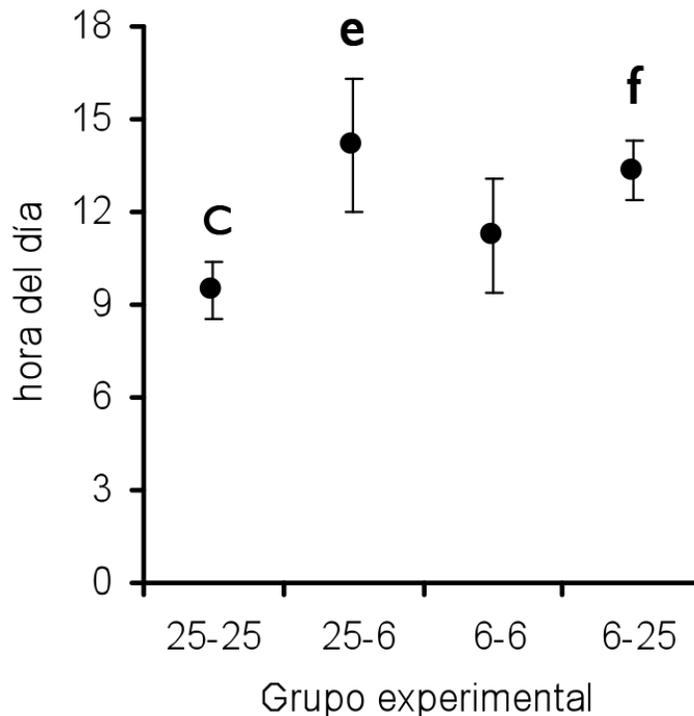


Figura 5. Acrofase promedio obtenida mediante el ajuste de cosinor entre grupos experimentales. Se obtuvieron diferencias significativas entre el 25/25 con el grupo

6/25 y entre el 25/25 y el grupo 25/6 se obtuvieron diferencias marginalmente. La letra **C** mayúscula muestra las diferencias significativas con la **e** y la **f** minúsculas.

### Porcentajes de Ritmicidad en el ajuste cosenoidal.

#### PORCENTAJE EN PRUEBA

El análisis por COSINOR, dio también distintos porcentajes de ritmicidad para cada uno de los grupos experimentales. La figura 6 muestra el promedio de los porcentajes obtenidos para cada grupo de animales ( $\pm$  ES). Los mayores porcentajes de ritmicidad fueron detectados en el grupo control y el segundo grupo con porcentaje más alto fue el 6-25. Las letras sobre las barras indican entre cuales grupos se detectaron diferencias significativas (Letra mayúscula vs minúscula). Se puede observar que los porcentajes de ritmicidad en los grupos 25-6 y 6-6 fueron menores al 20%.

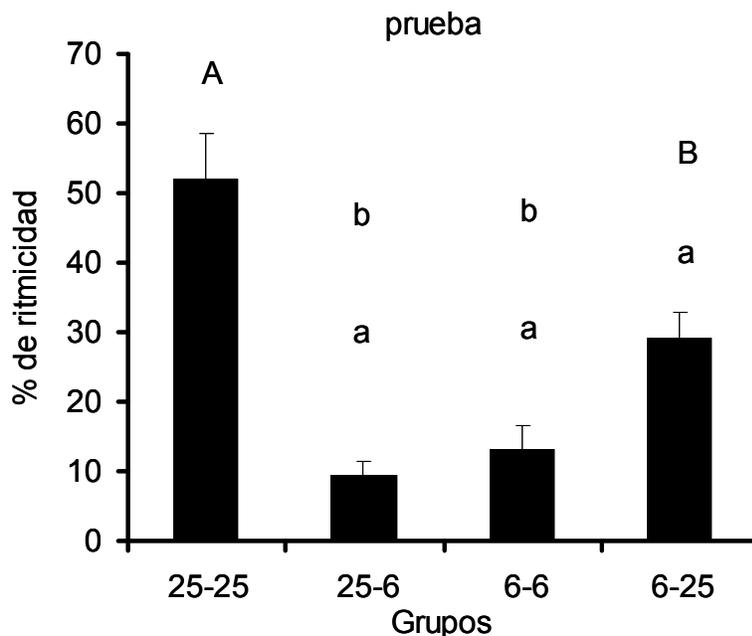


Figura 6. Promedio del porcentaje de ritmicidad obtenido en el ajuste por COSINOR. El mayor porcentaje se observa en el grupo control, seguido del grupo

6'25. Las letras mayúsculas y minúsculas denotan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### ACROFASE LATENCIA INICIAL

En esta figura (Fig 7) se muestran las acrofases promedio de todos los grupos en su prueba de Latencia Inicial. Todas las acrofases promedio se calcularon por medio de Cosinor. En esta prueba, las acrofases fueron distintas respecto a la Prueba, ya que la Latencia Inicial nos indica cuanto tiempo tardo el animal en salir a explorar, resultando para los controles una Acrofase de  $6 \pm 1$ . Para los animales del grupo 25-6 fue de  $9 \pm 1$ , mientras que los del grupo 6-6 mostraron el mismo resultado  $9 \pm 1$ . Finalmente, en esta prueba encontramos que los animales del grupo 6-25 fue de  $12 \pm 1$ , mostrando nuevamente diferencias significativas en comparación contra el grupo control ( $p < 0.05$ , t student).

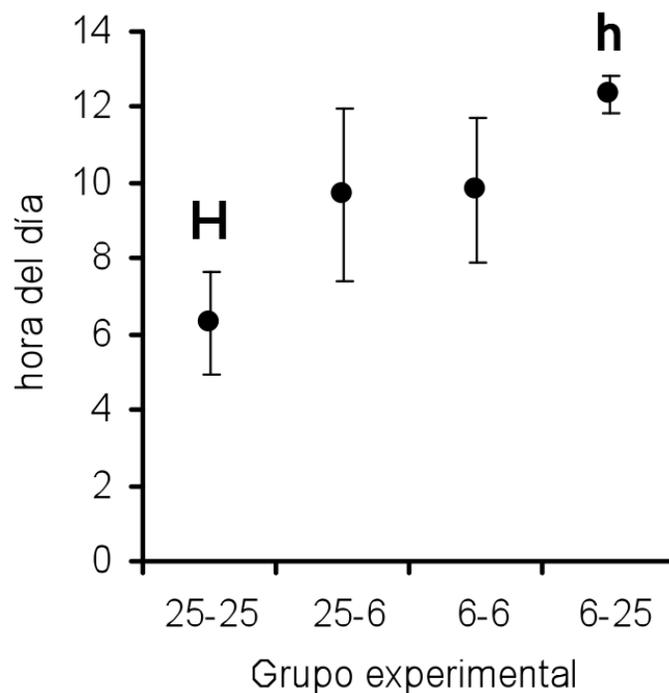


Figura 7. Acrofase promedio obtenida mediante el ajuste de cosinor entre grupos experimentales. Únicamente se obtuvieron diferencias entre el grupo 25-25 (letra H mayúscula) y el grupo 6-25 (letra h minúscula).

### PORCENTAJE EN LATENCIA INICIAL

La figura 8 muestra el porcentaje de ritmicidad que dieron los distintos grupos experimentales ( $\pm$  ES) por medio de COSINOR. Esta gráfica reafirma los resultados encontrados en las acrofases de la latencia inicial, ya que, los mayores porcentajes de ritmicidad en esta prueba caen en el grupo 6-25, siendo el siguiente grupo mas alto el control. Al comparar estos resultados con la gráfica de porcentaje de ritmicidad en la prueba, encontramos resultados opuestos. De igual forma, las letras sobre las barras indican entre cuales grupos se detectaron diferencias significativas (Letra mayúscula vs minúscula).

Podemos observar que los porcentajes de ritmicidad entre los grupos 25-6 y 6-6 no muestran diferencias significativas entre sí, ni con el control.

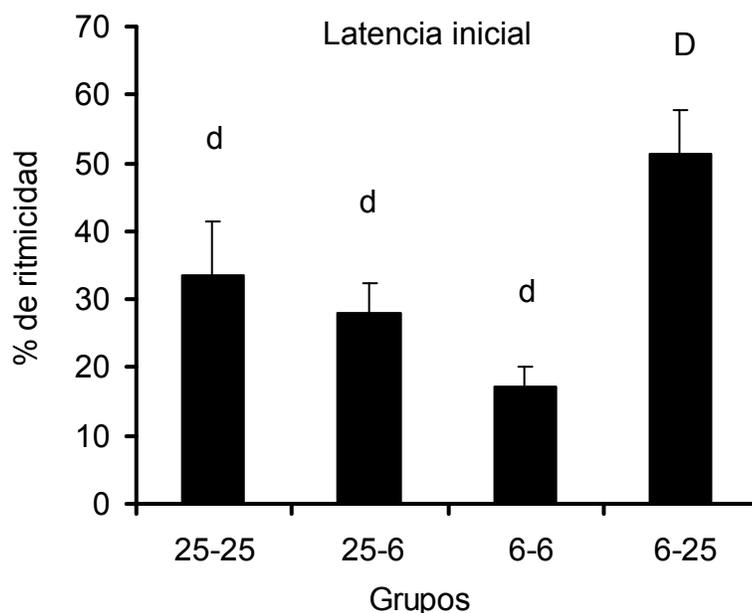


Figura 8. Promedio del porcentaje de ritmicidad obtenido con el ajuste de COSINOR. El mayor porcentaje se observa en el grupo 6-25, seguido del grupo control. Las letras mayúsculas y minúsculas denotan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### ACROFASE EN LATENCIA DE ESCAPE

En esta gráfica (Figura 9), no hay diferencias significativas entre ningún grupo. La figura nos muestra las acrofases de los distintos grupos en la prueba de latencia de escape en donde el animal principalmente explora su camino. Vemos que las acrofases en general caen en la misma hora. Para el grupo control la tenemos entre  $12 \pm 1$ , para el grupo 25-6 encontramos sus acrofases entre  $11 \pm 1$  y para los siguientes grupos, 6-6 y 6-25 encontramos sus acrofases alrededor de  $12 \pm 1$ . En esta prueba no encontramos diferencias significativas entre los grupos. Para todos las acrofases se midieron por medio de COSINOR

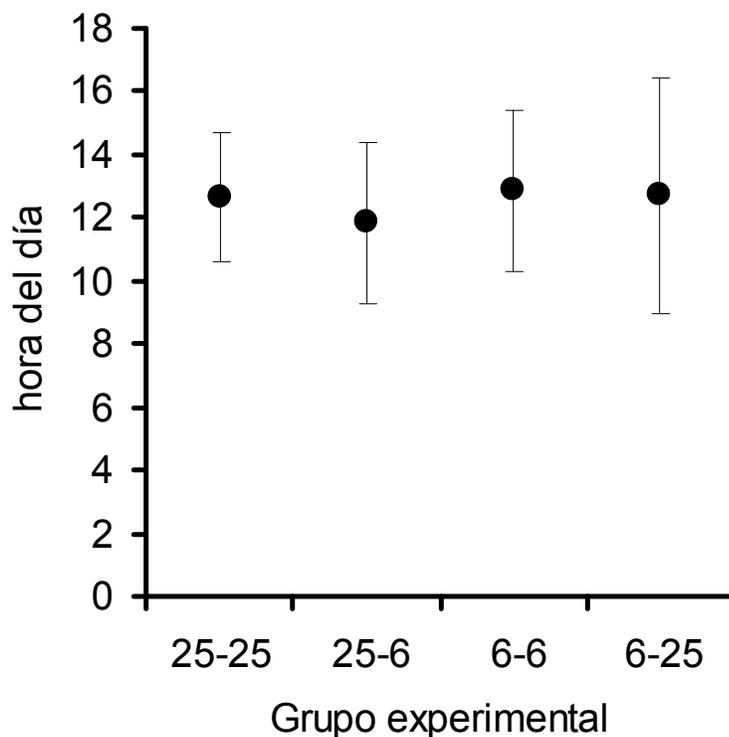


Figura 9. Acrofase promedio obtenida mediante el ajuste de COSINOR entre grupos experimentales. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos.

### PORCENTAJE DE RITMICIDAD EN LA LATENCIA DE ESCAPE

La figura 10 muestra el porcentaje de ritmicidad ( $\pm$  ES) calculado con COSINOR en los 4 grupos experimentales. Podemos observar que solo un grupo muestra diferencias significativas con los demás. Igual que en las acrofases de estas pruebas tres de los grupos se comportaron muy similar con un porcentaje de ritmicidad menor a 30. Sólo el grupo 6-25 supera este porcentaje mostrando así que es el grupo como mayor promedio. Las letras sobre las barras indican entre cuales grupos se detectaron diferencias significativas (Letra mayúscula vs minúscula).

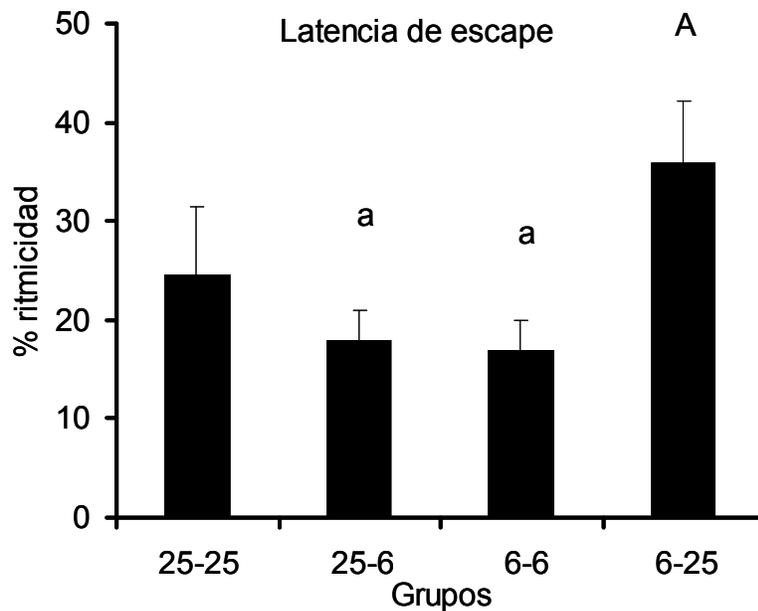


Figura 10. Promedio del porcentaje de ritmicidad obtenido con el ajuste de COSINOR. El mayor porcentaje se observa en el grupo 6-25. Las letras mayúsculas y minúsculas denotan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

### ACROFASE EN LATENCIA DE BÚSQUEDA

Las acrofases promedio calculadas para cada grupo en la latencia de búsqueda se muestran en la figura 11. Una vez más las diferencias significativas ( $p < 0.05$ , t student). Se encontraron entre el grupo control y el 6-25 presentado una Acrofase de  $15 \pm 1$  y  $9 \pm 1$  respectivamente. El grupo 6-6 presentó una Acrofase de  $18 \pm 1$ , finalmente el grupo 25-6 arrojó una Acrofase de  $14 \pm 1$ . Notemos que esta prueba mide la toma de decisión y fue en la que el grupo 6-25 resultó más bajo y totalmente opuesto a las pruebas anteriores.

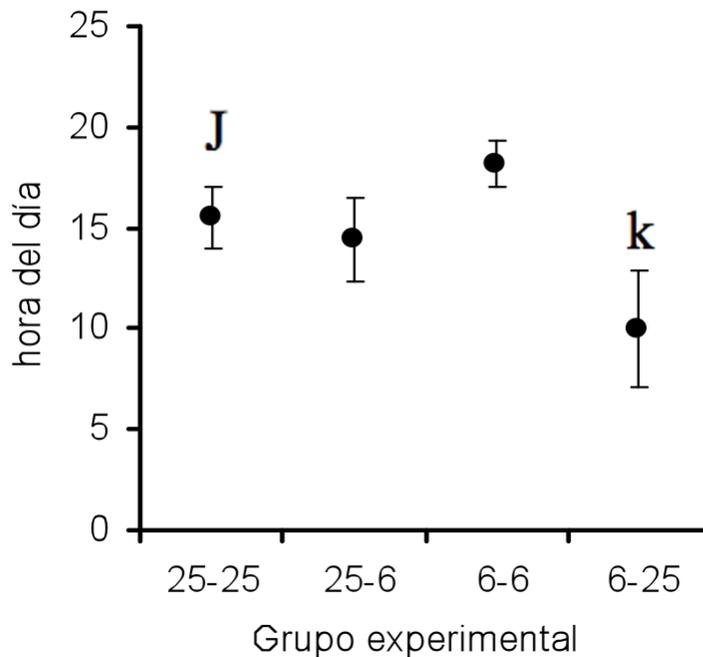


Figura 11. Acrofase promedio obtenida mediante el ajuste de COSINOR entre grupos experimentales. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos 6-25 (letra k minúscula) y el 25-25 (letra J mayúscula).

### PORCENTAJE DE RITMICIDAD EN LATENCIA DE BÚSQUEDA

La figura 12 muestra el porcentaje de ritmicidad en la latencia de búsqueda obtenido por medio de COSINOR en cada grupo experimental ( $\pm$  ES). La mayor porcentaje recae en el grupo control obteniendo arriba del 30% de ritmicidad, los demás grupos, 25-6, 6-6 y 6-25, se encuentran por debajo de 20%, sin embargo en general no hay diferencias significativas en la prueba.

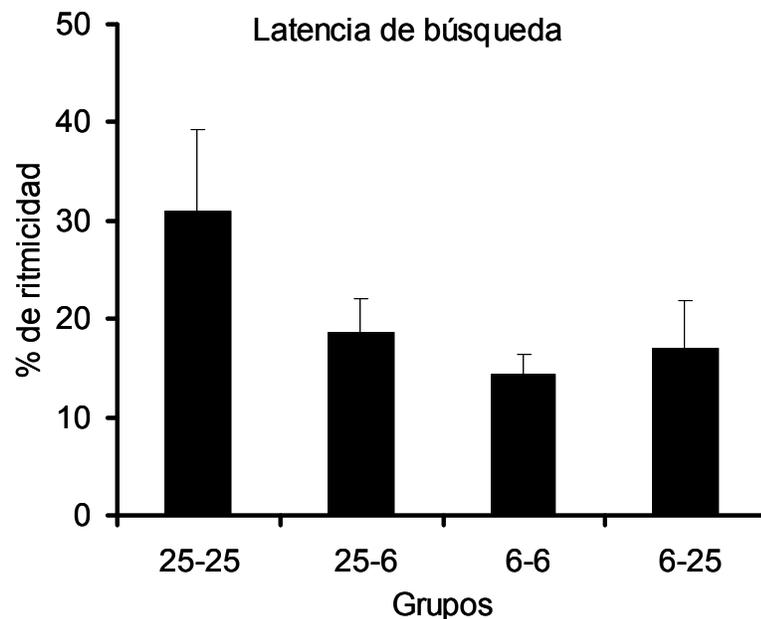


Figura 12. Promedio del porcentaje de ritmicidad obtenido en el ajuste por COSINOR. El mayor porcentaje se observa en el grupo control. No existen diferencias significativas entre los grupos.

### **III. Porcentajes de casos con ritmicidad con $P < 0.05$**

La figura 13 muestra el número de casos en donde su porcentaje de ritmicidad arrojó una  $p < 0.05$  en las distintas pruebas por los distintos grupos experimentales. Podemos observar las grandes diferencias que muestran los grupos en las distintas pruebas. En la latencia inicial alrededor del 70% de los animales del grupo 6-25 obtuvieron una ritmicidad muy clara con una  $p < 0.05$  y en las siguientes pruebas esta confiabilidad en su respuesta fue disminuyendo, comparando así con la prueba final en donde solo menos del 20% de los animales de este grupo presentaron una clara ritmicidad. En el caso opuesto, el grupo control presentó solo un 30% de animales en la latencia inicial con una  $p < 0.05$ . Sin embargo, en la última prueba el 70% de los animales presenta una gran confiabilidad en su ritmicidad con una  $p < 0.05$ . El grupo 25-6 presenta un muy bajo porcentaje en la latencia inicial (10%) de casos con una  $p < 0.05$ . En general en la latencia de escape y en la latencia de búsqueda no hay mucha variabilidad de porcentaje entre los dos únicos grupos que aparecen, siendo muy bajo para ambos. El grupo 6-6, no tuvo ningún animal que presentara una  $p < 0.05$  durante sus pruebas.

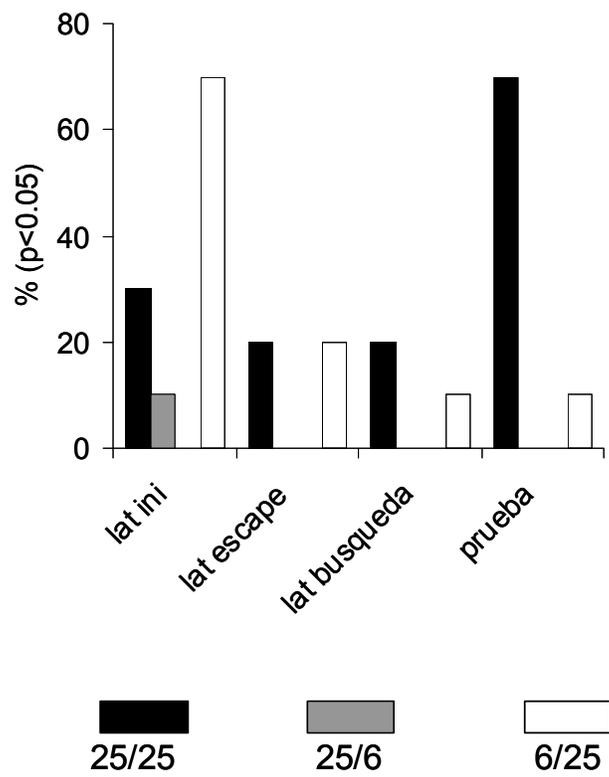


Figura 13. Porcentaje de casos con ritmicidad con una  $p < 0.05$  obtenido por COSINOR. Donde los grupos más variables entre si fueron el control y el 6-25.

#### IV. Resultados Conductuales

Con respecto a las gráficas conductuales, la que mostró más diferencias significativas fue la gráfica de promedios de latencia inicial dividido en tres etapas del día: mañana, tarde y noche. Este parámetro es el tiempo que le toma al animal en recorrer el laberinto e iniciar la exploración. Es claro que el grupo control (25-25) tiene grandes diferencias con los demás, siendo con los grupos de malnutrición prenatal (6-6 y 6-25) los más alejados. En la etapa nocturna, el grupo 6/6 tarda mayor tiempo en salir, siendo este aun mayor que durante la mañana del grupo control, y recordemos que estos animales son nocturnos. Durante la mañana y la tarde muestra en mayores diferencias el grupo 6-25 con el 25-25, tomándole mucho tiempo tomar la decisión.

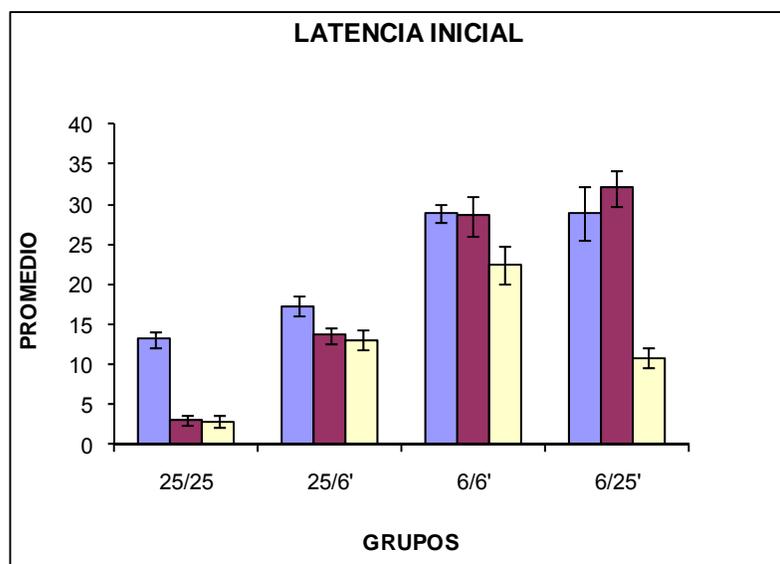


Fig. 13. Latencia Inicial comparada en tres diferentes tiempos del día, mañana, tarde y noche. Obsérvese los grupos 25/25 y 6/25 que son los grupos más variables puesto que a cualquier hora del día muestran diferencias significativas

## DISCUSIÓN

Desde la década de los 1960's los esfuerzos científicos por demostrar que la malnutrición produce alteraciones cognoscitivas e incluso un cierto grado de retraso mental, han llevado a suponer que la reducción del tamaño cerebral y el número de células produce dichas alteraciones. Sin embargo, los abordajes al respecto de cómo el sustrato neuro-anatómico puede incidir en una determinada respuesta conductual o modificación fisiológica revelan resultados contradictorios considerando el tipo de desnutrición o malnutrición, su severidad, duración y el momento del desarrollo en que se instale (Morgane y cols 1978, 1993). Aunque la mayoría de los estudios reportados en la literatura relacionados con la malnutrición producida por dietas hipoproteínicas, con alto contenido de grasa o proteína, o desnutrición proteínico-calórica instaladas durante el periodo perinatal, coinciden en general en la reducción del número de neuronas, reducción del tamaño del cuerpo celular, reducción de la arborización dendrítica y por lo tanto disminución de las áreas de contacto sináptico, sin embargo la permanencia de los efectos en el corto o largo plazo depende del momento de desarrollo y la duración en que fue instalada la mala nutrición (Morgane y cols 1978, Brock y Prasad, 1992, Andrade y cols 1995). Por otro lado, variaciones mucho más sutiles pueden estar incidiendo en la respuesta conductual a un determinado estímulo, como por ejemplo en los mecanismos de liberación y recaptura de un determinado neurotransmisor, su concentración extracelular, el número y conformación de receptores membranales de una determinada área cerebral pueden estar afectados y como consecuencia las respuestas fisiológicas o conductuales asociadas a dicha área podría verse afectadas.

La dieta por si misma puede incidir en la concentración y síntesis de las aminas biogénicas, como ha sido demostrado por Wurtman y Fernstrom, (1975). En nuestro modelo de malnutrición como se menciona en los antecedentes existen evidencias de que las aminas biogénicas y otros neurotransmisores se encuentran alterados de manera diferencial por la malnutrición durante la ontogenia de un individuo. En los modelos de malnutrición prenatal existe evidencia de que la serotonina, la dopamina y el triptófano se encuentran aumentados en varias regiones cerebrales en el nacimiento y tienden a disminuir hacia la madurez (Chen y cols, 1996), mientras que la norepinefrina y trirosina están disminuidas y la densidad a receptores a opiodes esta aumentada (Fiacco et al, 2003) así como se han evidenciado algunas alteraciones en algunas subunidades de GABA (Steiger et al 2002). También se ha reportado que la malnutrición crónica producida por una dieta hipoproteínica del 8% disminuye la actividad glutamatérgica así como la densidad de receptores a glutamato en la corteza cerebral (Rotta y cols 2003, 2008).

Estas evidencias podrían explicar en cierta medida los resultados obtenidos en diversos estudios conductuales como lo que han evaluado el ciclo de sueño y vigilia (Cintra y cols 1988, Cintra y cols 2002, Durán y cols 2006, Durán y cols, 2008), algunos ritmos circadianos (Aguilar-Roblero y cols 1997, Cintra y cols 2002, Castañon-Cervántes y Cintra 2002, Durán y cols 2005), conductas espontáneas como juego, exploración, conducta materna, etc. (Tonkiss y cols, 1990, Rotta y cols 2003, Rotta y cols, 2008) y procesos cognoscitivos (Tonkiss, et al 1993-2005).

Como se ha mencionado, existen resultados contradictorios en cuanto a los procesos afectados utilizando mismo modelo de malnutrición, lo cual podría explicarse en parte con los datos obtenidos en el presente estudio en el cual demostramos que existe un claro ritmo diario que influye en la respuesta conductual, en este caso en los procesos de atención en la rata en la prueba de alternancia empleando el laberinto en T, y que además esta alterado de manera diferencial por el tipo de malnutrición, prenatal, postnatal o crónica.

En el presente estudio se analizó si el aprendizaje simple, utilizando un laberinto en T en la rata, se encontraba influenciado por el momento del día en que la prueba fue realizada, y si la malnutrición prenatal, postnatal o crónica podría afectar el proceso de aprendizaje así como la integración de la respuesta conductual. Para lograr el objetivo del aprendizaje, se utilizó como reforzador positivo o recompensa el agua (de la cual los sujetos fueron restringidos por al menos 12 horas).

En el presente estudio utilizamos un paradigma de memoria espacial en el cual la formación hipocámpica y la corteza prefrontal cerebral son necesarias (Jones y Wilson 2005 y Hyman y cols 2005), el objetivo principal es determinar si la rata es capaz de aprender a dirigirse al brazo en el que se sitúa el agua y comprobar si aprende a dirigirse al lugar donde se sitúa el agua en relación con las claves presentes en la habitación (aprendizaje de lugar). La eficiencia del aprendizaje, es decir, la relación entre frecuencia en que los sujetos se dirigieron al brazo dónde se encontraba el agua y el tiempo para realizar la tarea, fue considerada para determinar la existencia de un ritmo diario. Los resultados mostraron que efectivamente este tipo de aprendizaje simple está siendo, si no

controlado, al menos soportado por una clara ritmicidad diaria, la cual, se afecta dependiendo del tipo de malnutrición, como se discutirá más adelante. Con respecto al análisis de la conducta, se observó que dependiendo de la fase (actividad o reposo) y la hora del día, la respuesta conductual, era influida a pesar de que todos los animales fueron entrenados previamente para realizar la tarea. Con respecto al efecto de la malnutrición sobre el aprendizaje simple demostró que todos los grupos experimentales presentaron alteraciones, así los animales MPt presentaron latencias de recorrido del brazo de exploración (latencia de búsqueda) menores a 20 segundos disminuyendo en la fase de reposo y aumentando en la fase de actividad, los MC presentaron un aumento en la fase de reposo y disminución en la fase de actividad, en tanto que el grupo MPr presentó latencias muy similares en ambas fases, mientras que en grupo Co la latencia es mayor en la fase de reposo y disminuye en la fase de actividad, similar a lo que se observó en los malnutridos crónicos. En cuanto a expresiones fisiológicas relacionadas con el estrés como son los bolos y las micciones, se observó que sólo en el grupo MPr se registraron más bolos fecales en la fase de actividad, y al ser comparados con el grupo Co, tanto los MC como los MPr registraron más bolos en ambas fases. Con respecto a las micciones, al comparar las fases de actividad y reposo, los Co y los MPos presentaron más micciones en la fase de actividad, y al comparar los grupos con el Co todos los experimentales tuvieron menos micciones en la fase de actividad. Como ha sido bien revisado en la literatura, la incontinencia urinaria o fecal se ha relacionado con el estrés, en donde la liberación de heces u orina sucede como respuesta a un aumento súbito de la presión en la vejiga o el esfínter rectal, provocado por una denervación en

los músculos esfintéricos (Swash, 1990). En nuestros grupos experimentales nos llamó la atención que solamente los malnutridos prenatalmente fueron los que registraron más bolos fecales, en tanto que los Co registraron más micciones. Los grupos Mc y MPt presentaron menos bolos y micciones en todas las pruebas. Estos resultados sugieren que los grupos MC y MPt presentan una respuesta atenuada al estrés, lo que podría indicar alteraciones debidas a la malnutrición postnatal en los mecanismos que regulan esta respuesta fisiológica, mientras que los MPr, ya se ha reportado presentan concentraciones plasmáticas de corticosteroides elevadas con respecto al control (ROSENE 2002), lo que podría estar relacionado al aumento de bolos fecales más que micciones en este grupo.

Por otro lado, como también ya ha sido mencionado, el Núcleo Supraquiasmático del Hipotálamo (NSQ) es el principal marcapaso circadiano que sincroniza varios procesos fisiológicos y conductuales a los estímulos ambientales. En los roedores y la mayoría de los mamíferos altriciales (como el humano), esta estructura exhibe periodos de desarrollo embrionario y fetal (Antle y cols 2005, Serón-Ferre 2007 Kabrita 2008, Menaker 2009), estos periodos presentan una programación espaciotemporal muy bien definida en cuanto a la diferenciación celular y la expresión de los llamados genes reloj, en los roedores como el hámster y la rata, la neurogénesis inicia entre el día embrionario 9.5 al 12.5, el NSQ comienza a presentar ritmicidad a partir del día embrionario 13, en tanto que la sinaptogénesis se inicia en el último tercio de la gestación y concluye cerca del día postnatal 17 (Moore 1991, Antle 2005, Kennaway 2002). En esta estructura conformada por un núcleo y una corteza, de acuerdo con los estudios histológicos y anatómicos, se formará primero el núcleo, que será rodeado por células nuevas

que formarán la corteza (Kabrita y cols 2008), éste arreglo no sólo implica el tamaño o forma de las neuronas, también supone una distribución neuroquímica e interacciones intercelulares específicas que son necesarias para el buen funcionamiento de los mecanismos de este oscilador circadiano (ver Antle y cols 2005, para revisión).

## **CONCLUSIONES**

- La malnutrición hipoproteínica afecta de manera severa el desarrollo del sistema nervioso central. De manera general reduce la síntesis de proteínas responsables del correcto desarrollo del tejido neural, lo que provoca que se vean afectadas áreas particularmente responsables de altas funciones cognitivas tal como la atención y son: el hipocampo, corteza, y el núcleo supraquiasmático.
- El tipo de malnutrición y el momento del desarrollo en que se instala definirá la severidad y duración de los efectos sobre el sistema Nervioso, los procesos cognoscitivos y el control circadiano o temporal de éstos.
- El proceso de aprendizaje y atención presenta una distribución temporal diaria, que sugiere una ritmicidad circadiana regida por el núcleo supraquiasmático, la cual se ve afectada diferencialmente según el tipo de malnutrición.
- La malnutrición hipoproteínica instalada durante los periodos críticos del desarrollo del núcleo supraquiasmático afecta su funcionamiento y el acoplamiento temporal de conductas regidas por el reloj circadiano.

- La malnutrición hipoproteínica instalada durante los periodos críticos del desarrollo del hipocampo y la corteza cerebral, altera los procesos cognoscitivos asociados además del sustrato neuroanatómico. La severidad de los efectos depende del momento en que la malnutrición es instalada.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Afonso, D., Santana, C. y Rodríguez, M. Neonatal lateralization of behavior and brain dopaminergic asymmetry. Brain Research. Bull. 32 (1): 11-16, 1993
- Aguilar-Roblero R., Guadarrama P., Mercado C., Chávez J.L., El núcleo Supraquiasmático y la glándula pineal en la regulación de los ritmos circadianos en roedores, Temas selectos de Neurociencias III, 321-329, 2004
- Aguilar-Roblero R, Salazar-Juarez A, Rojas-Castañeda J, Escobar C, Cintra L., Organization of circadian rhythmicity and suprachiasmatic nuclei in malnourished rats: Circadian Rhythms in Malnutrition: 1321-1331, 1997
- Antle M.C., LeSauter J., Silver R., Neurogenesis and ontogeny of specific cell phenotypes within the hamster suprachiasmatic nucleus, Developmental Brain Research, 157: 8-18, 2005
- Aréchiga H, Mecanismos de Integración de los ritmos biológicos, Ciencia, 34: 141-152, 1983
- Benedito-Silva A., Programa para análisis temporal en microcomputadora, COSANA Versión 3.1, Grupo Multidisciplinario de desarrollo de ritmos biológicos, Departamento de Fisiología y Biofísica, Ciudad Universitaria, Sao Paulo, Brasil.

- Bonatto F, Polydoro M, Andrades ME, Conte da Frota Júnior ML, Dal-Pizzol F, Rotta LN, Onofre Souza D, Luiz Perry M, Fonseca Moreira JC. Effect of protein malnutrition on redox state of the hippocampus of rat: *Brain Research*: 1042: 17-22, 2005
- Borbéley A A. Circadian Rhythm of vigilance in rats: modulation by short light-dark cycles, *Neuroscience Letters*: 67-71, 1975
- Castañón-Cervantes O, Cintra L. Circadian rhythms of occipital-cortex temperature and motor activity in young and old rats under chronic protein malnutrition: *Nutritional Neuroscience*: 5(4): 279-286, 2002
- Chen J-C., Turiak G., Galler J., Volicer L., Postnatal Changes of Brain Monoamine levels in Prenatally Malnourished and control rats, *Development Neuroscience*, 15 (2), 257-263, 1997
- Cintra L, Galván A, Díaz-Cintra S, Escobar C. Protein Malnutrition on Suprachiasmatic Nucleus cells in rats of three ages: *Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.:* 42: 11-19, 1994.
- Cintra L., Granados L., Aguilar A., Kemper T, DeBassio W, Galler J., Morgane P, Durán P, Díaz-Cintra S, Effects of Prenatal Protein Malnutrition on Mossy Fibers of the hippocampal formation in rats of four age groups. *Hippocampus*, 7:184-191, 1997
- De la Iglesia H O., Cambras William T., Schwartz J., Díez-Noguera A., Forced Desynchronization of dual Circadian Oscillators within the rat suprachiasmatic nucleus, *Current Biology*, 14 : 796-800, 2004

- Dudchenko P.A., Wood E.R., Eichenbaum H., Neurotoxic hippocampal lesions have no effect on odor span and little effect on odor recognition memory but produce significant impairments on spatial span, recognition, and alternation, *The Journal of Neuroscience*, 20 (8): 2964-2977, 2000
- Dunlap J.C., Loros J.J., DeCoursey P.J., *Chronobiology (Editors), Biological Timekeeping*, Sinauer Associates, 2004
- Durán P, Cintra L, Galler JR, Tonkiss J. Prenatal Protein Malnutrition induces a phase shift advance of the spontaneous locomotor rhythm and alters the rest/activity ratio in adult rats: *Nutritional Neuroscience*: 8(3): 167-172: 2005.
- Durán P., Galler J., Cintra L., Tonkiss J., Prenatal Malnutrition and sleep states in adult rats: Effects of restraint stress, *Physiology and Behavior*, 89: 156-163, 2006
- Durán P., Galván A., Granados L., Aguilar-Roblero R., Cintra L, Effects of protein malnutrition on vigilance states and their circadian rhythms in 30-day-old rats submitted total sleep deprivation, *Nutritional Neuroscience*: 1-12, 1999
- Durán P. Miranda-Anaya M., Mondragón García I., Cintra L., Protein Malnutrition and aging affects entraining and intensity of locomotor activity and body temperature circadian rhythms in rats, *Nutritional Neuroscience*, 11 (6):263-268, 2008

- Escobar Briones C, Calderas I., Rugerio C., Cintra L., Circadian Distribution in Behavioral patterns of chronic malnourished rats, Bol. Estud. Méd. Biol. Mex., 44: 37-110, 1996
- Escobar Briones C, Salazar Juárez A, Granados Fuentes D, Aguilar Roblero R. La sincronización: características y mecanismos, Boletín de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, 5: 8-13, 1998
- Estévez-González A., García Sánchez C., Junqué C., La atención: una compleja función cerebral, Revista de Neurología, 25 (148): 1989-1997, 1997
- Fernández M.P., Berni J., Ceriani M.F., Circadian Remodeling of Neural Circuits Involved in Rhythmic Behavior, Plos Biology, 6 (3): 518-524, 2008
- Fiacco T. A., Rosene D.L., Galler J.R., Blatt G.J., Increased Density of Hippocampal Kainate Receptors but Normal Density of NMDA and AMPA Receptors in a Rat Model of Prenatal Protein Malnutrition, The Journal Of Comparative Neurology, 456: 350-360, 2003
- Capítulo 11  
Functional Organization of the Motor System, en Frackowiak R.S.J., Friston K.J., Frith C.D., Dolan R.J., Mazziotta J.C., Human Brain Function, Academic Press, 1997
- Golombek D. A., Cronobiología: en busca del tiempo perdido: Fisiología de los ritmos biológicos, 4: 273-285, 1997.

- González Garrido A. A., Ramos Loyo J. (Coords.), La atención y sus alteraciones: del cerebro a la conducta, Edit. El manual moderno, 2006, pp. 1-94,
- Granados Fuentes D, Salazar Juárez A., Vergara Aragón J., Escandón Calderón J., Vega González A., Aguilar-Roblero, Los ritmos circádicos en mamíferos: conceptos, implicaciones y bases biológicas, en J. Velázquez Moctezuma (comp.), Temas selectos de neurociencias, UAM, México, 1995, pp. 433-458
- Gressens P, Muaku SM, Besse L, Nsegbe E, Gallego J, Delpech B, Gaultier C, Evrard P, Ketelslegers JM, Maiter D. Maternal protein restriction early in rat pregnancy alters brain development in the progeny: Developmental Brain Research: 103: 21-35,1997
- Gruart A., Delgado José María, Escobar C., Aguilar Roblero R., Los relojes que gobiernan la vida, Fondo de Cultura Económica, 2002
- Capitulo1  
Hernández González M., Prieto Beracoechea Carlos A., Un acercamiento a la motivación. En: Corsi Cabrera María, Motivación Animal y Humana. U de Gdl. 2004
- Kabrita C.S., Davis F.C., Development of the mouse suprachiasmatic nucleus: determination of time of cell origin and spatial arrangements within the nucleus, Brain Research, 1195: 20-27, 2008

- Kennaway D.J., Programming of the fetal suprachiasmatic nucleus and subsequent adult rhythmicity, *Endocrinology & Metabolism*, 13 (9):398-402, 2002
- Lukoyanov Nikolai V., Pereira P.A., Mesquita R. M., Andrade J.S., Restricted feeding facilitates time-place learning in adult rats, *Behavioural Brain Research*, 134: 283-290, 2002
- Lalonde R, The neurobiological basis of spontaneous alternation, *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26: 91-104, 2002
- Mattson, M., Hauser, K., Spatial and temporal interaction of neurotransmitter signals in the development of neural circuitry. *Neurochemistry*, 19: 17-24, 1991
- Mendelson W.B., Bergmann B.M., Tung A., Baseline and post-deprivation recovery sleep in SCN-lesioned rats, *Brain Research*, 980: 185-190, 2003
- Moreno Toledo A., Correlatos de Incidencia del ocaso en estados anímicos, agitación y conducta agresiva en ancianos: Síndrome de Sundowning, *Revista Argentina de Clínica Neuropsiquiátrica*, 14 (1): 72-80, 2007
- Morgado I., Psicobiología del aprendizaje y la memoria: fundamentos y avances recientes, *Revista de Neurología*, 40 (5): 289-297, 2005
- Morgane PJ, Austin-LaFrance R, Bronzino J, Tonkiss J, Díaz-Cintra S, Cintra L, Kemper T, Galler JR. Prenatal Malnutrition and Development of the Brain. *Neuroscience and Biobehavioral*: 17: 91-128, 1993.

- Morgane PJ, Mokler DJ, Galler JR. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation: *Neuroscience and Biobehavioral*: 26: 471-483, 2002.
- Moura P. J., Gimenes-Júnior J.A., Valentinuzzi V.S., Xavier G.F., Circadian phase and intertrial interval interfere with social recognition memory, *Physiology and Behavior*, 96: 51-56, 2008
- Pedemonte M., La información sensorial y su relación con los ritmos biológicos de vigilia-sueño y theta del hipocampo, *Actas de Fisiología*, 6: 71-92, 2000
- Pizzo M.J., Crystal J.D., Evidence for an alternation strategy in time-place learning, *Behavioural Processes*, 67: 533-537, 2004
- Rebolledo M.A., Rodríguez S., El aprendizaje y sus dificultades, *Revista de Neurología*, 42: 39-42, 2006
- Rodier P.M., Developing Brain as a target of Toxicity, *Environmental Health Perspectives*, 103 (6): 73-76, 1995
- Rodier P.M., Vulnerable Periods and Processes during central Nervous System Development, *Environmental Health Perspectives*, 102: 121-124, 1994.
- Rodier P.M., Reynolds S.S., Morphological Correlates of behavioral Abnormalities in experimental congenital brain damage, *Experimental Neurology*, 57: 81-93, 1977

- Rojas-Castañeda J., Viguera-Villaseñor R.M., Rojas P., Rojas C., Cintra L., Immunoreactive vasoactive intestinal polypeptide and vasopressin cells after a protein malnutrition diet in the suprachiasmatic nucleus cells, *Laboratory Animals*, 2008
- Rotta L.N., Leszczinski D.N., Brusque A.N., Pereira P., Brum L.F.S., Nogueira C.W., Frizzo M.E.S., Perry M.L.S., Souza D.O., Effects of undernutrition on glutamatergic parameters in the cerebral cortex of young rats, *Physiology and Behavior*, 94: 580-585, 2008
- Rotta L.N., Schmidt A.P., Souza T.M., Nogueira C.W., Souza K.B., Izquierdo I.A., Perry M.L.S., Souza D.O., Effects of Undernutrition on Glutamatergic Parameters in Rat Brain, *Neurochemical Research*, 28 (8): 1181-1186, 2003
- Scrimshaw N.S., Malnutrition, Brain Development, Learning, and Behavior, *Nutrition Research*, 18 (2): 351-379, 1998
- Seron-Ferre M., Valenzuela G., Torres-Farfan C., Circadian Clocks During Embryonic and Fetal Development, *Birth Defects Research*, 81: 204-214, 2007
- Stern Warren C., Pugh W.W., Resnick O., Morgane P.J., Developmental Protein Malnutrition in the Rat: Effects on Single-Unit Activity in the Frontal Cortex, *Brain Research*, 306: 227-234, 1984
- Tonkiss J., Galler J.R., Prenatal Protein Malnutrition and working memory performance in adult rats, *Behavioural Brain Research*, 40: 95-107, 1990

- Tonkiss J, Shultz P, Galler J.R. An analysis of Spatial Navigation in Prenatally Protein Malnourished Rats: *Physiology and Behavior*: 55(2): 217-224, 1994.
- Tonkiss J., Trzcinska M., Galler J.R., Ruíz-Opazo N., Herrera L.M.H., Prenatal Malnutrition-Induced Changes in Blood Pressure. Dissociation of stress and nonstress responses using radiotelemetry, *Hypertension*, 32: 108-114, 1998
- Vann S.D., Brown M.W., Erichsen J.T., Aggleton J.P., Fos Imaging reveals differential patterns of hippocampal and parahippocampal subfield activation in rats in response to different spatial memory tests, *The Journal of Neuroscience*, 20 (7): 2711-2718, 2000
- Yamazaki S, Straume M, Tei H, Sakaki Y, Menaker M, Block GD. Effects of aging on central and peripheral mammalian clocks: *Neurobiology*: 99 (16): 10801-10806, 2002.