

03086

1
2ej



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIDAD ACADEMICA DE LOS CICLOS
PROFESIONAL Y DE POSGRADO**

**ALTERACIONES MORFOLOGICAS EN LA AMIGDALA
Y EL CLAUSTRUM ASOCIADAS A LA DESNUTRICION
NEONATAL EN LA RATA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS
P R E S E N T A :
MTRA. CAROLINA ESCOBAR BRIONES**

**DEPTO. DE FISIOLÓGIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS**

MEXICO, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1992

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RESUMEN

En las ratas desnutridas neonatalmente se observa una respuesta emocional exagerada persistente, que obstaculiza su interacción social, así como su rendimiento en pruebas de aprendizaje y en situaciones novedosas. La exposición a estimulación sensorial temprana ha mostrado revertir algunas de las alteraciones conductuales de ratas desnutridas, sin embargo la respuesta emocional exagerada perdura a pesar de la rehabilitación nutricional y conductual.

En este trabajo se pretendió determinar posibles alteraciones morfológicas en núcleos de la amígdala, que pudieran subyacer a los cambios conductuales característicos de la rata desnutrida y en especial de la respuesta emocional. Se estudió también el claustrum como estructura de referencia por su cercanía con la amígdala.

Se estudiaron cerebros de crías de ratas Wistar de 12, 20 y 40 días de edad, sometidas a desnutrición por el método de "separación parcial", así como sus controles bien nutridos.

Las crías se sacrificaron a una de tres edades, 12, 20 y 40 días, por medio de decapitación, previa anestesia con éter. Inmediatamente se removieron sus cerebros, se pesaron y se procesaron con la técnica histológica de Golgi-Cox.

Con una cámara lúcida adaptada al microscopio se elaboraron dibujos de las neuronas de los núcleos basolateral, central y medial de la amígdala. De estas neuronas (N=25) se midió con un digitalizador el área somática y el área dendrítica y se contó también el número de ramas dendríticas.

El análisis de varianza de dos factores mostró que la desnutrición neonatal ocasiona un decremento significativo ($p < 0.001$) en el crecimiento corporal y en el peso cerebral.

En los 3 núcleos de la amígdala y en las 3 edades estudiadas se observó un decremento significativo ocasionado por la desnutrición en el área somática y en el área dendrítica ($p < 0.001$), aunque a los 40 días se amortiguó mucho la diferencia entre desnutridos y controles. En el número de ramas dendríticas la disminución ocasionada por la desnutrición fue significativa únicamente en el núcleo basolateral y central ($p < 0.01$), aunque se observó una tendencia a la baja en el núcleo medial a los 12 y 20 días. A su vez en el claustrum las diferencias asociadas a la desnutrición fueron significativas para todos los parámetros ($p < 0.001$).

Los datos obtenidos en este estudio sugieren que las alteraciones morfológicas de la amígdala pueden ser en parte substrato de la respuesta emocional exagerada que se observa en las ratas desnutridas, ya que los núcleos más alterados morfológicamente participan en la regulación de estas respuestas. Así mismo, se observó que la desnutrición altera en mayor intensidad las estructuras polisensoriales inespecíficas que las específicas.

SUMMARY

Several studies have suggested that neonatally undernourished rats exhibit an exaggerated emotional response. This increased reactivity affects the social interaction, the learning performance and the response in novel situations. Some behavioral alterations associated to undernutrition have been reversed by exposing the rats to early stimulation, but the exaggerated reactivity has not shown any amelioration with these proceedings.

The present study was designed to determine possible morphological alterations in amygdalar nuclei, that could underly the described emotional alterations. The claustrum was also studied as a reference structure due to its proximity to the amygdala.

The effects of postnatal undernutrition were studied on 12, 20 and 40 day old rats exposed to the "partial separation" method and their controls. The pups were anesthetized with ether and sacrificed in one of these three ages by decapitation. Brains were removed, weighted and processed with the Golgi-Cox histological procedure. Camera lucida drawings were (n=25) performed from neurons located in the basolateral, central and medial nuclei from the amygdala, as from the claustrum. Measurements of somatic area, dendritic area and number of dendritic ramifications were obtained for each neuron. Data were processed with a 2way ANOVA.

Undernourished pups had lower body and brain weights than their well-nourished siblings ($p < 0.001$). The somatic and dendritic areas were also significantly reduced in the undernourished brains ($p < 0.001$), although at the age of 40 days the difference between both experimental groups had diminished. A reduction in the number of dendrites was observed in the basolateral and central nuclei of undernourished pups ($p < 0.001$), but a tendency to decrease was also observed in the medial nucleus on days 12 and 20. In the claustrum a significant reduction was observed in all measurements and ages ($p < 0.001$).

Since the amygdalar nuclei affected by undernutrition are implicated in the regulation of emotional responses, the alterations observed in this study, might be partly a morphological substrate of this behavioral alteration. Our data point out that undernutrition affects more intensely polysensory nonspecific than specific structures.

INDICE

INTRODUCCION.....	1
Efectos de la Desnutrición sobre el Sistema Nervioso... 3	
Período crítico.....	3
Cambios morfológicos.....	4
Alteraciones neuroquímicas.....	7
Cambios en la actividad eléctrica cerebral.....	9
Cambios conductuales.....	10
Características de la Amígdala Cerebral.....	13
Estructura general.....	13
Ontogenia de la amígdala.....	17
Funciones asociadas a la amígdala.....	19
Planteamiento del Problema.....	22
MATERIAL Y METODO.....	25
Formación de Grupos.....	25
Método para producir Desnutrición.....	26
Marcaje de las Crías.....	27
Control de Peso Corporal.....	28
Extracción de Cerebros.....	28
Técnica de Golgi-Cox.....	29
Inclusión en Celoidina.....	30
Corte y Montaje del Tejido.....	31
Obtención de Muestras.....	31
Medidas Morfométricas.....	34
Análisis Estadístico.....	35

RESULTADOS.....	38
Peso Corporal.....	38
Peso Cerebral.....	40
Observaciones al Microscopio.....	40
Núcleo Basolateral de la Amígdala.....	42
Área somática y área dendrítica.....	43
Número de ramas dendríticas.....	47
Núcleo Central de la Amígdala.....	50
Área somática y área dendrítica.....	52
Número de ramas dendríticas.....	54
Núcleo Medial de la Amígdala.....	57
Área somática y área dendrítica.....	59
Número de ramas dendríticas.....	60
Caustrum.....	65
Área somática y área dendrítica.....	65
Número de ramas dendríticas.....	69
DISCUSION.....	72
Núcleo Basolateral Amigdalino.....	74
Núcleo Central Amigdalino.....	79
Núcleo Medial Amigdalino.....	83
Caustrum.....	87
CONCLUSIONES GENERALES.....	94
BIBLIOGRAFIA.....	102

INTRODUCCION

Cuando los organismos en desarrollo padecen desnutrición, se detienen o se retrasan sus procesos ontogenéticos de proliferación celular, de diferenciación y de crecimiento. Estas alteraciones las sufren en particular aquellos órganos que, durante el periodo de desnutrición, se encuentran en una etapa de intenso desarrollo y que, por lo tanto, atraviesan por un periodo vulnerable en su estructuración y funcionalidad.

Entre ellos resultan susceptibles las estructuras que constituyen al sistema nervioso central (SN), que en las especies altriciales atraviesa durante la gestación, así como en la etapa temprana neonatal por un periodo de máxima proliferación celular, diferenciación y maduración neuroquímica. Esto convierte al SN en una estructura muy sensible para modificar su estructuración y funcionamiento por influencia de factores epigenéticos, entre ellos la desnutrición, las hormonas, algunos medicamentos e inclusive el paso deficiente de información sensorial por las vías correspondientes. Las alteraciones funcionales resultantes repercuten a corto y largo plazo en patrones conductuales inadecuados, que en algunas situaciones entorpecen la interacción y la adaptación del organismo con su medio ambiente.

En este trabajo se aborda el problema de la desnutrición perinatal que, como ya se mencionó, ocasiona alteraciones en la

estructuración del SN cuando la padece un organismo durante el periodo crítico de su desarrollo. En trabajos previos de este grupo (Escobar y Salas, 1987; Salas y Cintra, 1979) así como de otros grupos de investigación (Franková, 1973; Levitsky y Barnes, 1970; Whatson y col., 1976) se ha descrito que la rata desnutrida neonatalmente, presenta respuestas emocionales exageradas ante situaciones novedosas o procedimientos experimentales. Esta alteración es muy consistente y no se revierte aun sometiendo a las ratas a rehabilitación nutricional o a sesiones de estimulación temprana (Escobar y Salas, 1987; Crnic, 1983). El conocimiento que se tiene hasta el momento sobre los efectos de la desnutrición sobre el SN no ofrece una explicación satisfactoria a este fenómeno conductual. Por ello ha resultado de interés para nuestro grupo relacionar la respuesta emocional alterada con posibles cambios morfológicos que pudieran subyacer a estas alteraciones en la rata desnutrida. Así, este trabajo pretende describir la morfología de algunos núcleos de la amígdala temporal, ya que éstos se consideran un complejo nuclear involucrado de manera muy importante en la regulación de respuestas afectivas, autonómicas y hormonales.

Efectos de la Desnutrición sobre el Sistema Nervioso

Periodo crítico.-

En el proceso de formación del SN de la rata la proliferación celular destinada a la formación de conglomerados neuronales ocurre durante la gestación y continúa hasta el día 21 postnatal, edad en que se inicia el destete (Dobbing, 1970, Winick y Noble, 1966). Este proceso de división celular de las zonas germinales no es homogéneo para todo el SN, ya que hay estructuras para las que el proceso es primordialmente prenatal, mientras que en otras este proceso continúa importantemente hasta el destete; tal es el caso del bulbo olfatorio, el hipocampo y las cortezas cerebral y cerebelosa (Patel, 1983).

Estos momentos de formación de las estructuras se han considerado "periodos críticos" ya que durante ellos el SN es sumamente lábil y fácilmente puede modificarse su estructuración ante la incidencia de factores externos. En vista de que cada zona cerebral sigue un ritmo y un tiempo distinto de proliferación, los periodos críticos para cada estructura nerviosa son heterocrónicos. De tal suerte, que en cada zona los efectos de un factor epigenético son de distinta intensidad dependiendo del momento de desarrollo en que haya incidido y de su duración. Así mismo otros procesos como el establecimiento de contactos sinápticos y la mielinización, que ocurren posteriores a la proliferación pasan también por periodos críticos de alta vulnerabilidad a eventos externos.

Cambios morfológicos. -

Cuando un organismo llega a padecer desnutrición durante la lactancia, se reduce su peso corporal en un 25% a 40%, de acuerdo con la intensidad de la desnutrición que haya padecido. El tamaño cerebral también se reduce, aunque en menor proporción, probablemente por efecto de una primacía metabólica que aparentemente se desencadena para proteger al SN (Morgane y col., 1978). La proporción de la deficiencia del peso cerebral oscila aproximadamente entre 10% y 24% (Bass y col., 1970; Dobbing y col., 1971; Chase y col., 1971) y las dimensiones del ancho y del largo de los hemisferios se reducen en esa misma proporción (Angulo-Colmenares y col., 1979). Aparentemente esta disminución en las dimensiones cerebrales es consecuencia de un menor número de células nerviosas (Winick y Noble, 1966; Dobbing y col., 1971) y de la reducción en la extensión de sus árboles dendríticos (Cragg, 1972), lo cual lleva a una compactación en la densidad celular del cerebro del desnutrido (Gambetti y col., 1974).

En la corteza cerebral de ratas desnutridas neonatalmente se ha observado este fenómeno de compactación, ya que el grosor cortical es menor en una proporción del 17% (Clark y col., 1973), y esto es en gran parte consecuencia de que hay menor número de células nerviosas (Bass y col., 1970; Clark y col., 1973; Díaz-Cintra y col., 1990; Lewis y col., 1975). En realidad las células que más se reducen son las células gliales (Winick y Noble, 1966) ,por su característica de ser de formación tardía en

la ontogenia. Aunque, también hay un decremento importante de las interneuronas de las capas II y III de la corteza cerebral (Escobar, 1974), que también son de formación tardía en la ontogenia cerebral.

En la rata desnutrida se ha descrito también una reducción significativa de la cantidad de ramas y espinas dendríticas en la corteza cerebral (Dyson y Jones, 1976; Gambetti y col., 1974). En la corteza frontal y visual se ha descrito menor número de ramas (Cordero y col., 1986) y de espinas sinápticas en las células piramidales de la capa V (Díaz-Cintra y col., 1990; Salas y col., 1974), y de ellas, se alteran más las arborizaciones dendríticas de las ramas basales (Cordero y col., 1986). Así mismo se ha descrito que la forma de las espinas dendríticas es inmadura en los desnutridos, ya que a los 60 días en que normalmente en controles se observa una mayoría de espinas de forma alargada, en los desnutridos predomina una forma de hongo, que es característica de animales jóvenes (Schönheit y Haensel, 1989).

En el cerebelo de ratas desnutridas se han observado alteraciones muy similares a las que ocurren en la corteza cerebral. Se ha descrito menor grosor cortical y menor cantidad de células corticales (Barnes y Altman, 1973; Chase y col., 1969; Clos y col., 1977; Dobbing y col., 1971). En especial, se ha descrito que las células granulosas disminuyen en cantidad, ya que la desnutrición neonatal incide sobre su periodo de

proliferación. Se ha podido determinar también que existe una hipoplasia de los árboles dendríticos, en particular los de las células de Purkinje que en la capa molecular muestran una reducción significativa que va del 37% al 24% (Hillman y Chen, 1981).

Las alteraciones en el proceso de proliferación celular se deben a que la deficiencia nutricional provoca un alargamiento del ciclo de reproducción en las células de las capas germinales, lo cual lentifica todo el proceso de producción celular (Lewis y col., 1975). En ratas desnutridas, persisten las capas germinales del cerebelo y de los hemisferios cerebrales, unos días más que en los controles, pero no se logra la misma producción celular. A su vez, se lentifica la migración de las células diferenciadas de las zonas germinales hacia la corteza (Barnes y Altman, 1973; Patel, 1983; Sharma y col., 1987) lo cual puede ser un evento favorecedor de una mala estructuración de las zonas cuya formación es tardía dentro de la ontogenia cerebral.

La mayoría de las estructuras subcorticales son de formación prenatal, por lo que su celularidad se ve poco o nada alterada por la desnutrición neonatal. Sin embargo, existen algunos procesos tardíos que sí llegan a alterarse por la incidencia de este factor. De tal manera se han reportado deficiencias del árbol dendrítico en algunas células del hipocampo (Ahmed y col., 1987; Diaz-Cintra y col., 1991) y del talamo (Salas y col., 1986), así

como en el tallo cerebral (Hammer y Marthens, 1981). Es importante mencionar que en especial se alteran las células que conectan con circuitos polisensoriales. Así, por ejemplo, Salas y col., (1986) describieron deficiencias importantes en las ramas dendríticas de neuronas de núcleos talámicos no específicos, esto es, polisensoriales, a diferencia de los núcleos específicos que no mostraban diferencias significativas con sus controles. Recientemente Diaz-Cintra y col., (1991) han descrito también deficiencias en las células granulares del giro dentado, que son blanco de aferencias multimodales.

La desnutrición altera también en forma muy importante el proceso de mielinización, ya que este proceso se lleva a cabo principalmente durante la lactancia y por lo tanto llega a coincidir con los periodos de desnutrición. Se ha descrito que las fibras nerviosas en los desnutridos tienen menor cantidad de mielina y que a su vez la composición química de ella está alterada, de manera que algunos componentes lipoproteínicos se encuentran en desproporción en relación a la mielina de las ratas control (Egwim y col., 1986; Nakhasi y col., 1975; Reddy y col., 1979; Reddy y Horrocks, 1982).

Alteraciones neuroquímicas.-

La cantidad, concentración y eficiencia de los neurotransmisores en el SN pueden ser un índice de su funcionamiento y de la regulación de algunas conductas. En la rata desnutrida se han determinado los niveles de noradrenalina y

serotonina a distintas edades.

Stern y col., (1975) describieron que las ratas desnutridas tienen muy elevado el nivel de estas aminas biogénicas y en especial describen alta concentración de serotonina que oscila entre 30% y 200% en el diencefalo y tallo cerebral. El aumento en la cantidad de serotonina parece relacionarse con una deficiencia de albumina en sangre, con la que se une la fracción precursora L-triptofano en plasma. Esta albúmina que está reducida provoca un exceso de L-triptofano a nivel periférico de lo que resulta un aumento en la síntesis de serotonina a nivel central (Hernández y col., 1989; Ishimura y col., 1989; Manjarrez y col., 1988; Stern y col., 1976).

Por otro lado, el nivel de norepinefrina se altera en la desnutrición neonatal principalmente a nivel periférico (Seidler y col., 1990). Al igual que en la serotonina se ha observado un aumento en los niveles de este neurotransmisor que oscila entre 30% y 200% (Stern y col., 1975) y que parecen asociarse a una capacidad deficiente por parte de los receptores α_2 y β de unirse a la norepinefrina.

La elevación plasmática de estas aminas biogénicas, entonces refleja una alteración del organismo para sintetizar y utilizarlas (Morgane y col., 1978). Esta alteración ha de reflejarse en la regulación inadecuada de conductas como la responsividad al stress

y cambios emocionales, así como en la organización de los patrones de sueño, que se sabe son conductas para las que intervienen estos sistemas.

Cambios en la actividad eléctrica cerebral.-

Conociendo el retraso que sufren las ratas desnutridas en el desarrollo morfológico del SN se han determinado sus consecuencias funcionales empleando potenciales provocados por estímulos luminosos (Morgane y col., 1978), auditivos (Mourek y col., 1967) y somatosensoriales (Salas y Cintra, 1973). En estos registros de potenciales provocados se ha observado que el umbral de disparo se eleva en los desnutridos y que la latencia de la respuesta aumenta en una proporción del 15% al 20% en los primeros 15 días postnatales, en una proporción del 5% al 10% a los 20 días y desaparece al llegar al estado adulto. Esta alteración se ha asociado a una maduración más lenta de las ratas desnutridas, así como a un proceso de mielinización retardado que provoca lentitud en la conducción del impulso nervioso.

En registros obtenidos con estimulación auditiva se ha observado también que la amplitud de respuesta es menor en la corteza cerebral (Mourek y col., 1967) y en el tallo cerebral (Kawai y col., 1989). Este parámetro pudiera ser el reflejo del menor número de espinas dendríticas y de menor densidad de terminales presinápticas.

Paralelamente, en mediciones de la actividad eléctrica espontánea se ha observado que el desnutrido presenta un retardo consistente en la adquisición de patrones electroencefalográficos adultos en áreas frontales y del hipocampo (Morgane y col., 1985), en áreas corticales temporales y occipitales (Salas y Cintra, 1975) y en el bulbo olfatorio (Almlí col., 1985). Estas alteraciones también se manifiestan en los patrones de sueño, pues se ha observado que el sueño paradójico en los desnutridos se distribuye distinto que en sus controles, siendo mayor su frecuencia en la noche que en el día (Forbes y col., 1977), a diferencia de las ratas control en las que los periodos de sueño son más numerosos en las fases de luz. También se ha descrito que el número de ciclos de sueño se reduce, aunque éstos resultan más prolongados (Salas y col., 1983). Recientemente Cintra y col., (1988) describieron aún a largo plazo una amplitud reducida en los episodios de REM de las ratas desnutridas pre y neonatalmente.

Cambios conductuales. -

A nivel conductual se ha descrito un decremento general en la expresión de las primeras conductas de las ratas desnutridas en desarrollo. De tal manera, se ha observado que las crías desnutridas compiten menos con sus hermanos de camada por el alimento materno (Massaro y col., 1977; Franková, 1973), son menos activas y menos demandantes hacia la hembra lactante, pues emiten también menos sonidos ultrasónicos, que estimulan en la hembra las respuestas de lamido a las crías, de acarreo o de alimentación

(Hunt y col., 1976).

Las crías desnutridas tardan algunos días más que sus controles en abrir los ojos y los conductos auditivos y en mostrar patrones de respuestas motoras como erguir la cabeza y explorar (Altman y col., 1971), por lo tanto se retrasa también el inicio del desplazamiento para salir del nido (Massaro y col., 1977) y con ello el inicio de la conducta exploratoria. En la actividad de aseo se ha observado también un retraso en su desarrollo y en la expresión de los patrones de tipo complejo de esta conducta, que persisten hasta la edad adulta (Salas y col., 1991).

A largo plazo se observan también deficiencias conductuales entre las que se cuenta la dificultad para resolver tareas de aprendizaje espacial y de discriminación (Campbell y Bedi, 1989; Goodlett y col., 1986; Rogers y col., 1986), una reducción en la conducta exploratoria (Escobar y Salas, 1987) y descuido en el mantenimiento del nido y la atención maternal a las crías (Salas y Torrero, 1979; Wiener y col., 1977).

Se ha descrito que parte de estas alteraciones conductuales tienen como causa asociada la alta emotividad de las ratas desnutridas, ya que estas ratas que fueron desnutridas se mueven más, son más agresivas y más temerosas y expresan una respuesta emocional exagerada ante eventos novedosos (Escobar y Salas, 1987; Salas y Cintra, 1979; Wiener y col., 1983). De tal manera que,

ante situaciones de prueba conductual la reacción emocional de estas ratas bloquea la expresión de una respuesta adecuada o eficiente. Se ha considerado que la incapacidad de la rata desnutrida a dar respuestas correctas en pruebas de discriminación puede ser debido a este bloqueo emocional. También el exceso de conducta de aseo descrita por Salas y col., (1991) puede ser la expresión de una respuesta emocional exagerada de estos animales. Igualmente pudiera plantearse que la alteración en la conducta maternal sea consecuencia de una respuesta emocional alterada.

En una situación de campo abierto las ratas desnutridas neonatalmente suelen permanecer más tiempo en el cuadro de salida antes de empezar la exploración y, aunque se desplazan mucho en el campo, la actividad exploratoria es muy reducida, ya que aparentemente es un desplazamiento sin finalidad definida y sin husmeo. Este tipo de respuesta ha mostrado ser un indicativo muy consistente de la alteración emocional en la rata (Escobar y Salas, 1987; File y Dale, 1972; Guthrie, 1968; Salas y Cintra, 1979; Wiener y col., 1983). En situaciones de actividad libre estas ratas también muestran un estado de alto nerviosismo y cualquier evento extraño puede desquiciarlas y provocar en ellas respuestas de congelamiento motor y chillidos (Levitsky y Barnes, 1970; Turkewitz, 1975).

El estado de alta emotividad que se observa en ratas desnutridas es la característica más consistente observada en registros de conducta de estos animales, por lo que los circuitos

neurorales involucrados en estas respuestas son probablemente de las estructuras que se alteran por la desnutrición neonatal.

Características de la Amígdala Cerebral

La amígdala es un complejo nuclear que se ubica en la parte anteromedial del lóbulo temporal. Su nombre tiene un origen grecolatino, derivado del término *amygdale*, pues Burdach, que la describió en el siglo 19 le encontró gran similitud con una almendra. Se le ha considerado componente de los ganglios basales, por ubicarse contigua al cuerpo estriado y al claustrum, aunque sus conexiones y funciones la asocian más a estructuras límbicas, en especial al hipotálamo.

Estructura general. - Se han definido 2 grupos principales de núcleos en la amígdala, uno es el complejo corticomedial que es un sistema filogenéticamente antiguo y el otro es el complejo basolateral, que es un sistema filogenéticamente más reciente. Ambos sistemas difieren en su origen, en su morfología y en sus características funcionales. También forma parte de la amígdala el núcleo central, que por su origen filogenético se considera parte del complejo corticomedial (Kaada, 1972), sin embargo por su función integrativa se llega a considerar como un complejo aparte.

Se ha señalado al complejo corticomedial como regulador de respuestas parasimpáticas y se sabe que es un relevo directo de la

via olfatoria (Cowan y col., 1965). Las estructuras que lo componen son la corteza periamigdalina, el área anterior, el núcleo cortical y el núcleo medial. Este grupo de núcleos mantiene una relación muy estrecha con el hipotálamo y con el área preóptica, por lo que ejerce influencia sobre el hipotálamo en la regulación de respuestas asociadas a la alimentación y en la regulación de hormonas y de respuestas sexuales (Chateau y Aron, 1988; Cowan y col., 1965; Kozik y Szczech, 1976).

El complejo basolateral se ha señalado como componente del sistema simpático y como inhibidor de funciones hipotálamicas (Cowan y col., 1965). Ha sufrido un desarrollo filogenético paralelo a las áreas de asociación cortical, ya que mantiene conexiones funcionales importantes con diversas áreas de la corteza cerebral (Llamas y col., 1977; Price, 1987). Los núcleos que lo componen son el basolateral, el basomedial y el lateral. Es un centro de integración sensorial y para ello recibe aferencias de núcleos polisensoriales talámicos, del tallo cerebral y del hipotálamo (Cowan y col., 1965), junto con las aferencias provenientes de la corteza cerebral. Se ha propuesto que entre sus funciones está la de otorgarle un contenido emocional a la información sensorial que llega al organismo (Llamas y col., 1977). Con la utilización de técnicas de estimulación y lesión de esta zona se ha podido determinar que el complejo basolateral participa también en procesos de aprendizaje y memoria (Ferrer y col., 1987) y regula la expresión de respuestas agresivas, de

defensa, de miedo o de ataque (Price, 1987).

A la amígdala convergen principalmente dos vías, la estria terminalis y el haz ventral amigdalofugo. La estria terminalis está constituida principalmente por fibras que conectan al complejo corticomedial con el hipotálamo y el área preóptica, mientras que el haz ventral amigdalofugo contiene fibras

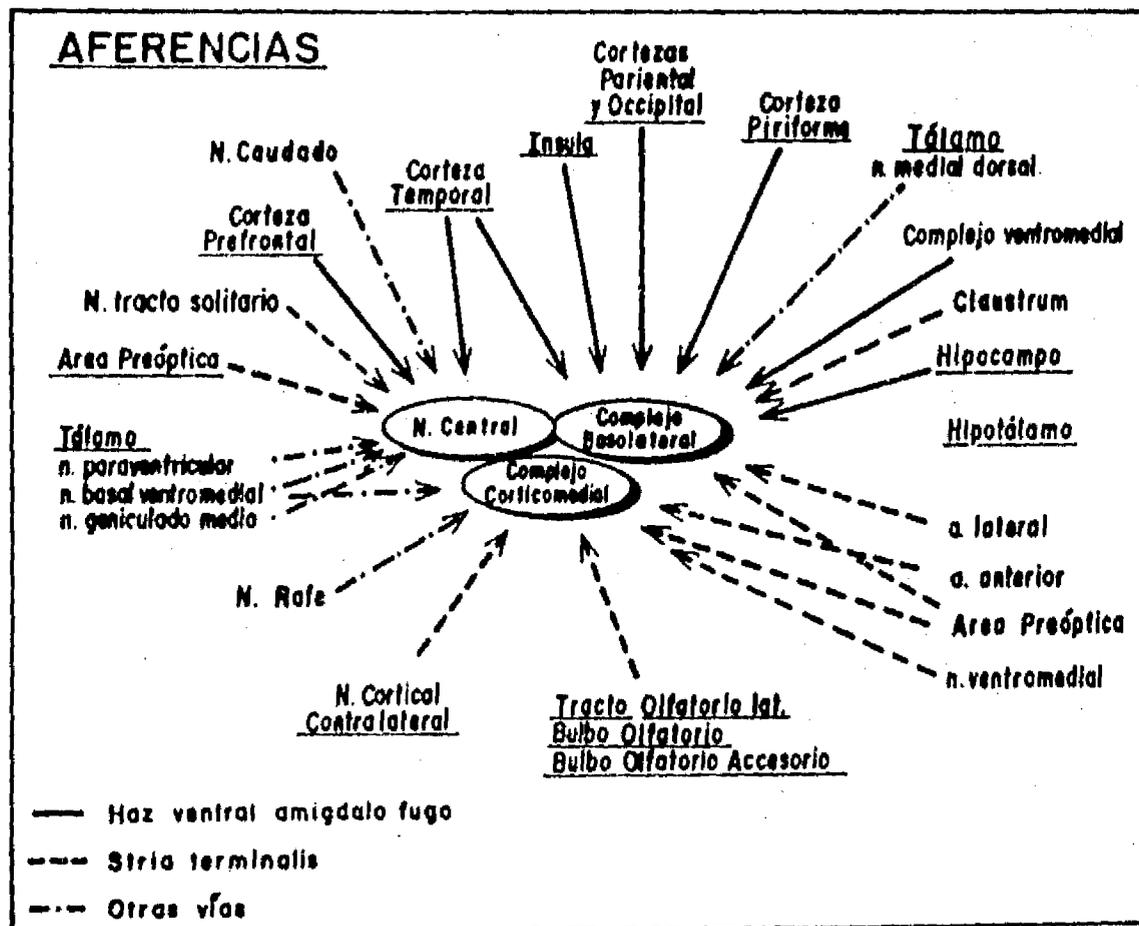


Fig.1A.- Aferencias más importantes de la amígdala. El trazado de vías está basado en las descripciones hechas por Cowan y col., (1965), De Olmos, (1972), Kaada, (1972), Lammers, (1972), Livingston y Escobar (1971), Llamas y col., (1977), Price, (1987) y Valverde, (1963).

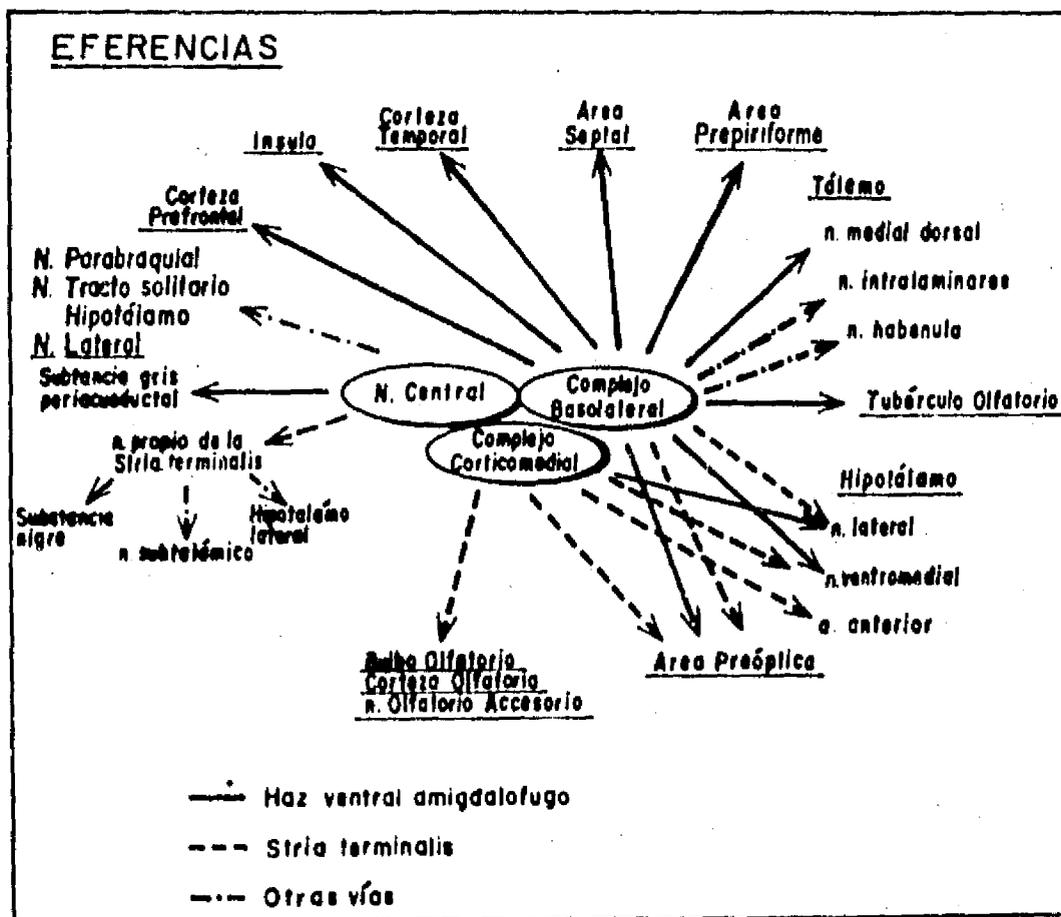


Fig.1B.- Eferencias más importantes de la amígdala. El trazado de vías está basado en las descripciones hechas por Cowan y col., (1965), De Olmos, (1972), Kaada, (1972), Lammers, (1972), Livingston y Escobar (1971), Llamas y col., (1977), Price, (1987) y Valverde, (1963).

procedentes o que van hacia el complejo basolateral de la amígdala y conectan a esta zona con núcleos inespecíficos del tálamo, con el septum, con el hipotálamo, la corteza temporal y la corteza prefrontal entre otras (ver Fig.1A y 1B).

Ontogenia de la amígdala.- La amígdala en los roedores es una estructura de formación prenatal, cuya etapa de máxima proliferación celular se ubica entre los 11 y los 18 días de gestación (Donkelaar y col., 1979). Con la utilización de timidina tritiada se ha podido observar que existe un grupo de núcleos de formación temprana que son el núcleo central, el área anterior, el núcleo cortical anterior y el núcleo medial (Donkelaar y col., 1979). Estas estructuras, con excepción del núcleo central, que llega a clasificarse como un complejo aparte, forman parte del complejo corticomedial. El otro grupo de núcleos, que conforman al complejo basolateral, se ha considerado de formación tardía, ya que su proliferación celular se inicia dos días después que en el complejo corticomedial. Entre ellos se incluyen los núcleos lateral, basomedial y basolateral, así como la porción posterior del núcleo cortical.

De acuerdo a Donkelaar y col., (1979) los núcleos de formación temprana inician su proliferación alrededor del día 12 de gestación, alcanzan un período de máxima proliferación el día 14 y para el día 16 son pocas las células que llegan a marcarse con timidina tritiada. En los núcleos de formación tardía se empiezan a marcar células el día 14, alcanzan su máxima proliferación el día 16 y finalizan su formación para el día 18 de gestación (ver Fig. 2).

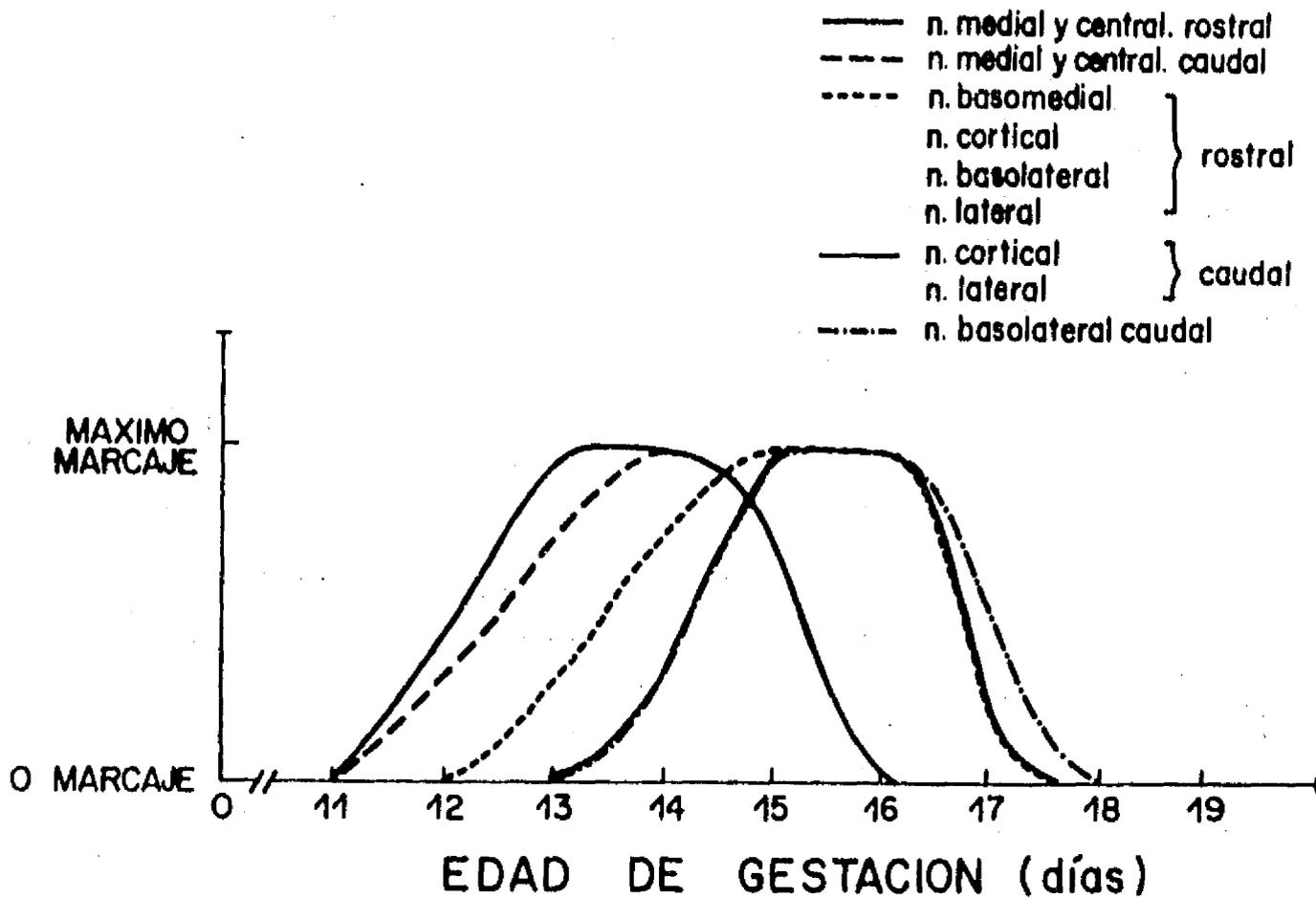


Fig.2.- Periodo de máxima proliferación celular en la ontogenia de la amígdala de acuerdo a Donkelaar y col., (1979), marcado con timidina tritiada.

Se sabe que después de la proliferación celular (hiperplasia), se presenta una etapa de crecimiento celular, llamada hipertrofia, en la que las células ya diferenciadas aumentan de volumen (Winick y Rosso, 1975). Considerando la etapa que comprende la proliferación celular de la amígdala, este momento debe ubicarse en los últimos días de vida fetal y

probablemente se prolongue a los días posteriores al nacimiento.

También al nacimiento quedan por madurar los contactos sinápticos. Nieto y col., (1983) describieron que al nacimiento las conexiones de la amígdala con otras estructuras son inmaduras y poco numerosas, pero que para el día 20 postnatal éstas han alcanzado características adultas. Igualmente, Kozik y Szczech (1976) describieron que la madurez histoquímica del grupo corticomédial se alcanza alrededor de los 17 días de edad postnatal, en cambio, los núcleos del grupo basolateral alcanzan su madurez histoquímica alrededor del día 40 postnatal. Este estudio histoquímico determinó la actividad enzimática en los diferentes núcleos, de manera que los datos obtenidos eran un indicativo de la diferenciación funcional compleja que se da a nivel sináptico. Este proceso por efectuarse durante la edad que comprende la lactancia, pudiera ser susceptible de sufrir alteraciones como consecuencia de la desnutrición neonatal.

Funciones asociadas a la amígdala.-

En procedimientos de estimulación eléctrica de la amígdala se ha observado que la respuesta inicial más común es una reacción de alerta, que consiste en suspender la actividad que está realizando el sujeto, seguida de una reacción conductual de orientación y de desincronización del electroencefalograma (Kaada, 1972 y Ursin y Kaada, 1960). Esta respuesta es similar a la que se observa por estimulación de la formación reticular del tallo cerebral.

También por estimulación eléctrica de la amígdala se ha observado una de dos respuestas, huida o defensa. Kaada (1972) describió que la zona amigdalina involucrada en la elaboración de respuestas de huida, comprende una banda de tejido que va de la parte rostral del núcleo lateral al núcleo central por la parte limitante con la cápsula interna. Por otro lado, las reacciones de defensa se generan en las regiones caudales del núcleo lateral y núcleo basolateral hacia el núcleo central. Estos hallazgos los han apoyado diversos grupos, entre ellos Hilton y Zbrozyna (1963), pero también se ha sugerido que el núcleo medial puede estar participando en la regulación de las respuestas de defensa (Wood, 1958).

Por estimulación de diversas zonas de la amígdala también se han generado respuestas de temor y furia (Hernández-Peón y col., 1967; Wood, 1958). Todas estas respuestas emocionales se presentan acompañadas de cambios autonómicos viscerales de tipo simpático (Mabry y Campbell, 1975). Por el contrario se han descrito respuestas de placidez y de pérdida de respuestas emocionales por la remoción bilateral de la amígdala (Gloor, 1960; Green y col., 1957; Morgane y Kosman, 1957).

Estas respuestas emocionales en las que participa la amígdala también se generan por estimulación de zonas hipotalámicas y mesencefálicas y pueden desaparecer también por lesiones de estas zonas. Aparentemente el hipotálamo es el centro de elaboración de

los patrones conductuales, la amígdala ejerce influencia modulando al hipotálamo, mientras que otras estructuras participan como sistemas de inhibición e integración de las mismas (Price, 1987).

Asimismo, se ha asociado a la amígdala con la regulación de respuestas endocrinas. Debido a su relación estrecha con la vía olfatoria, media respuestas conductuales en las que esta modalidad sensorial desempeña un rol importante, entre ellas la respuesta sexual (Chateau y Aron, 1988; Meaney y McEwen, 1986), la respuesta de alimentación (Kozik y Szczech, 1976), y las respuestas emocionales (Mabry y Campbell, 1975). Con la estimulación del complejo corticomedial se ha provocado liberación de hormonas hipofisiarias y se ha podido provocar ovulación en las hembras y respuesta copulatoria en el macho (Cowan y col., 1965; Lumia y col., 1987).

Se sabe que por vía del complejo basolateral, la amígdala recibe también aferencias polisensoriales, con las que ejerce un rol muy importante como centro de evaluación del significado emocional de estímulos internos y externos (Llamas y col., 1977). Asimismo se le han descrito funciones integrativas y de procesamiento de aprendizaje y memoria, principalmente asociadas a experiencias emocionales (Bermúdez-Rattoni y col., 1986).

Planteamiento del Problema

Como ya se describió, en las ratas que han sufrido desnutrición perinatal está muy alterada la respuesta emocional ante diversas situaciones. Hasta el momento se conoce muy poco, de cuales pudieran ser las alteraciones morfológicas y funcionales del SN asociadas a estas deficiencias conductuales.

Como primer paso para abordar esta incógnita se optó por el estudio de la amígdala, ya que como se describió previamente es un complejo nuclear involucrado en la regulación de estas respuestas. De tal manera, este estudio se enfocó a determinar si existen alteraciones morfológicas en esta estructura que pudieran subyacer las alteraciones conductuales descritas.

El presente estudio se realizó con ratas debido a que es una especie que tiene una distribución de las etapas de desarrollo cerebral muy similar al del hombre pero comprimidas en el tiempo, lo que convierte a esta especie en un buen modelo para este tipo de procedimientos.

Para este estudio morfológico se seleccionaron tres núcleos de la amígdala: el núcleo medial (AM), como ejemplo del grupo corticomedial; el núcleo basolateral (ABL) como ejemplo del complejo basolateral y el núcleo central (ACE). También se seleccionó el claustrum como núcleo de referencia, ya que es una

estructura próxima a la amígdala, que pudiera indicarnos si los efectos que se observaran son exclusivos de la amígdala o si son generalizados para la zona. De acuerdo a los antecedentes expuestos, se pudieran formular las siguientes propuestas:

1. La desnutrición neonatal lentifica el crecimiento general de los organismos, de manera que el peso corporal de las ratas desnutridas debe ser menor que el peso de sus controles.

2. La desnutrición neonatal incide en el periodo crítico neonatal de crecimiento cerebral, que consiste principalmente de proliferación de interneuronas y células gliales y también de hipertrofia de las células ya existentes. De manera que en las ratas desnutridas este es el crecimiento que se altera y el peso cerebral resulta menor que el de sus controles.

3. La respuesta emocional exagerada que se observa en las ratas desnutridas neonatalmente, puede tener en parte su origen en alteraciones de la amígdala, que llevarían a una regulación inadecuada de esta respuesta.

4. El tamaño del soma de las neuronas que componen a la amígdala puede alterarse por la desnutrición neonatal, debido a que ésta coincide en parte con la etapa de crecimiento y aumento de volumen de estas células.

5. El crecimiento y estructuración del árbol dendrítico de las neuronas que componen la amígdala puede alterarse por la

desnutrición neonatal, debido a que se trata de un proceso que se realiza y ajusta neonatalmente y coincide con la etapa en que el organismo sufre esta deficiencia.

6. De los núcleos amigdalinos, el núcleo ACE y en especial el núcleo ABL son sitios de relevo polisináptico. Este tipo de estructuras han mostrado ser especialmente sensibles a cambios asociados a la desnutrición, por lo que pudiera esperarse que el impacto de ella sea más intenso en éstas que en el AM que es relevo específico de la vía olfatoria.

Para determinar si estas propuestas son válidas, de las estructuras seleccionadas se midió el área del soma neuronal, el área del árbol dendrítico y el número de ramas dendríticas. Estas medidas son un índice de la capacidad neuronal para recibir y procesar información. De manera que también pueden reflejar la capacidad de diversos núcleos para regular una función.

MATERIAL Y METODO

Formación de Grupos

Se utilizaron ratas de tres edades durante el desarrollo, nacidas de hembras primíparas de la cepa Wistar, provenientes del bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Durante este estudio se mantuvieron en condiciones de 14 hr de luz (0700 - 2100) por 10 hr de oscuridad (2100 - 0700) y con temperatura ambiental de $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Para la obtención de las crías se cruzaron ratas vírgenes normales de aproximadamente 3 meses de edad, en una proporción de 3 hembras por cada macho. Desde ese momento y durante la gestación, se mantuvo a las hembras en grupos de 6 a 8 ratas en cajas de acrílico transparente (50 X 40 X 20 cm) y uno o dos días antes el parto se cambiaron a cajas individuales de maternidad (45 X 30 X 20 cm) del mismo material. En todo este lapso, así como una vez nacidas las crías, las hembras lactantes tuvieron libre acceso al agua y al alimento (Purina chow).

Para determinar la fecha de parto se revisaron las cajas de maternidad diariamente por la mañana y por la noche. En caso de encontrarse crías con la hembra o de estar la hembra pariendo, se anotaba esa fecha como el día "cero" de edad.

El primer día después del parto se retiraron las crías de los nidos y se ajustaron las camadas a 8 crías, preferentemente machos asignados al azar a cada hembra lactante. La mitad de las crías de cada camada (n=4) se asignó al grupo desnutrido y las otras 4 crías se asignaron al grupo control. Junto con este procedimiento se registró ese día el peso de todas las crías así como de las hembras lactantes. Para obtener el material histológico se emplearon tantas camadas como fueron necesarias, con el fin de contar con un mínimo de 8 machos para cada condición y de cada edad.

Método para producir Desnutrición

Para desnutrir a las crías se empleó el método de separación parcial diaria de la madre y del nido. Este procedimiento consistió en remover de cada camada a las 4 crías asignadas al grupo desnutrido y colocarlas durante 12 hr diarias (0800 - 2000) en una incubadora a temperatura regulada (29°C), durante la lactancia, esto es, del día 1 al 23 de edad. Las 12 hr restantes (2000 - 0800) se colocaban nuevamente en el nido, para que pudieran succionar a la madre. De esta manera, para estas crías se redujo a la mitad el tiempo de acceso a la leche materna y consecuentemente, se desnutrieron. La incubadora que se utilizó para este estudio fue el modelo 110 de Clinical Scientific Equipment Co. que aparte de guardar el calor de las crías durante el tiempo que permanecen ahí, las mantiene aisladas del ruido o

movimiento del personal del laboratorio.

Las otras 4 crías de la camada, correspondientes al grupo control, permanecieron durante toda la lactancia en el nido con libre acceso a la madre, y se les removió únicamente para el cambio de aserrín en la jaula cada tercer día.

El procedimiento de desnutrición se suspendió el día 24 de edad. A partir de entonces las 8 crías de cada camada permanecieron las 24 hr del día en la jaula de maternidad y se les permitió a todas libre acceso a la hembra lactante, al alimento y al agua.

Para la obtención de cerebros de 12 y 20 días se sacrificaron todas las crías de una misma camada de manera que no quedaran camadas incompletas. Las crías correspondientes al grupo de 40 días se destetaron a los 28 días de edad, se sexaron y se alojaron en cajas grandes de acrílico transparentes (50 X 40 X 20cm) en grupos de 6 a 8 ratas de un mismo tratamiento experimental. En ellas, tuvieron libre acceso al agua y al alimento (chow de Purina) hasta el día del sacrificio.

Marcaje de las Crías

A las crías que se asignaron al grupo desnutrido el día de la formación de las camadas se les cortó la primera falange de la

segunda y tercera garra del miembro anterior derecho, de manera que pudieran diferenciarse de sus controles al estar juntas en el nido. También se les pintó en la cabeza con plumón un punto de un mismo color a las crías de cada camada, para identificarlas al estar juntas en la incubadora y poder regresarlas al nido correspondiente en las noches.

Control de Peso Corporal

Las crías se pesaron el día 1 de edad, como parte del procedimiento de formación de las camadas. Posteriormente, se pesaron el día 12, 20 ó 40, según el día en que se sacrificaron. Para ello se retiraba a todas las crías del nido y se les pesaba en una báscula electrónica marca Hartner a una precisión de décimas de gramo. Estos registros tuvieron como finalidad tener un índice sobre el crecimiento corporal e indirectamente sobre el estado nutricional de los animales.

Extracción de Cerebros

Como ya se mencionó, el día de sacrificio se pesaron los animales y enseguida se anestesiaron con éter. De cada condición nutricional se sacrificaron por decapitación 8 machos a los 12, 20 y 40 días de edad. Enseguida de haberlos decapitado, se removieron los huesos del cráneo con ayuda de unas gubias y se extrajo el cerebro incluyendo bulbos olfatorios, cerebelo y tallo cerebral

hasta el nivel de las pirámides bulbares. Recién extraído el cerebro, se pesó y se cortó en 4 segmentos mediante secciones coronales, con lo cual se facilita la impregnación del tejido con la solución fijadora y de tinción. De esta manera, quedó un segmento que comprendía los bulbos olfatorios y los lóbulos frontales, otro con los lóbulos temporales y parietales, otro con los lóbulos occipitales y parte del cerebelo y otro segmento con el resto del cerebelo y el tallo cerebral. Enseguida se colocó cada cerebro cortado en un frasco ámbar con una solución de cromatos de potasio de acuerdo a la técnica histológica de Golgi-Cox.

Técnica de Golgi-Cox.

La preparación de Golgi-Cox para teñir neuronas y sus prolongaciones se compone de dos soluciones:

Solución A.-

Cloruro mercurico	1 gr
Dicromato de potasio	1 gr
Agua destilada	85 cc

Solución B.-

Cromato de potasio	0.8gr
Tungstato de sodio	0.5gr
Agua destilada	20 cc

Una vez preparadas ambas soluciones se mezclaron y la solución resultante se vació en frascos pequeños color ámbar junto con el tejido. Ahí se dejaron las secciones de cerebro por 20 a 30 días. Pasado este lapso se retiró el tejido de la sustancia y se deshidrató sucesivamente con alcohol al 50%, al 70%, al 96% , alcohol absoluto y finalmente con una solución de alcohol absoluto y acetona volumen a volumen.

Inclusión en celoidina

Para cortar el tejido cerebral se le incluyó en celoidina, la cual se compone de nitrocelulosa, éter y alcohol. Los cerebros ya deshidratados se colocaron en una solución de éter-alcohol, volumen a volumen. Posteriormente se fueron cambiando a soluciones de éter-alcohol con celoidina a concentraciones cada vez mayores, empezando con una concentración al 1% hasta el 30%. Esta última concentración es la que se utiliza para incluir los cerebros, de manera que cada una de las 4 partes de cada cerebro se vertió en un moldecito de plástico con celoidina al 30% y se colocaron en un desecador con cloroformo para endurecerla. Una vez conseguido esto, se vaciaron los moldes y los cerebros ya incluidos, se depositaron en alcohol al 50% listos para cortarse.

Corte y Montaje del Tejido

Los cerebros se cortaron siguiendo un orden anteroposterior, empezando por los bulbos olfatorios y finalizando con el tallo cerebral. Para ello cada parte de tejido cerebral, ya incluida, se fijó con un poco de celoidina líquida al 30% sobre una base de madera ajustable al microtomo. Cada segmento ya fijado se cortó en secciones de 150 a 200 μm . Cada sección se expuso por unos segundos al revelador Microdol (sulfato de p-metilaminofenol), se enjuagó en agua destilada, se introdujo en alcoholes de concentración cada vez mayor y finalmente en tolueno. Enseguida se colocaron las secciones sobre un portaobjetos y con la resina de montaje Permunt se selló la preparación con un cubreobjetos.

A cada portaobjetos se le anotó una clave con un lápiz de punta de diamante, de manera que al analizar las mediciones de cada neurona dibujada, se pudiera saber la condición experimental, el número de la camada, el número de la cría y la edad de esa muestra. También se numeraron los portaobjetos de acuerdo al orden de corte anteroposterior.

Obtención de Muestras

De cada cerebro se dibujaron neuronas de los núcleos amigdalinos basolateral, central y medial así como del claustrum que se tomó como estructura de referencia por su proximidad a la

amígdala. La intención de estudiar una estructura distinta a la amígdala, fue determinar si los efectos eran específicos de esa estructura o global de la región.

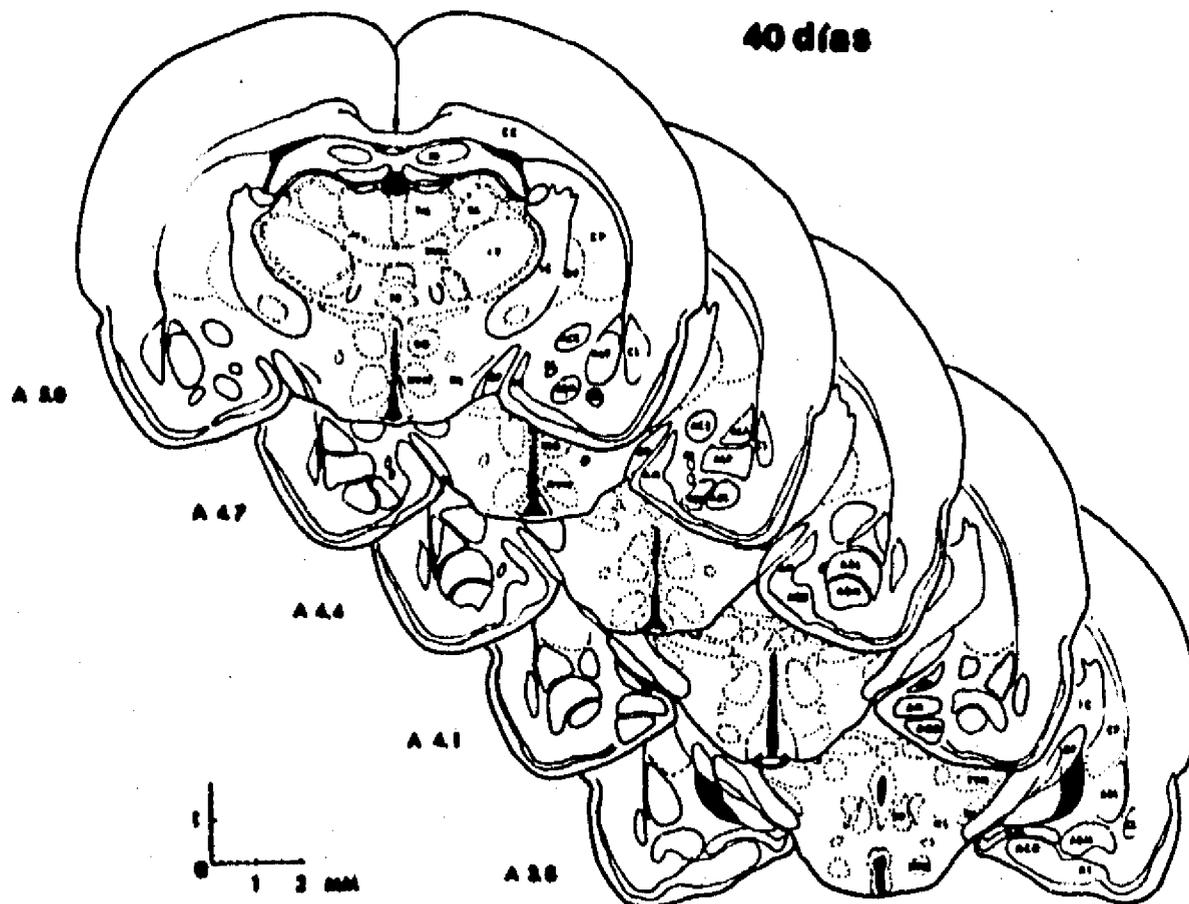


Fig.3.- Montaje de cortes coronales de cerebro de rata de 40 días, que representan la ubicación de los núcleos de la amígdala y estructuras cercanas, tomando como referencia el atlas estereotáxico de Sherwood y Timiras (1970). Las unidades representadas en los ejes del diagrama equivalen a un milímetro. ABL=núcleo basolateral, ABM=núcleo basomedial, ACE=núcleo central, AM=núcleo medial, ACD=núcleo cortical, ALA=núcleo lateral, ALP=núcleo lateral posterior, CP=núcleo caudado putamen, IC=cápsula interna, OP=tracto óptico.

Para localizar los núcleos se recurrió al atlas estereotáxico de Sherwood y Timiras (1970) que es específico para ratas en desarrollo (ver Fig. 3). Una vez localizados los núcleos en la preparación, por medio de un aumento de 15X en el ocular y de 10X en el objetivo, se eligieron las neuronas mejor teñidas y más completas de sus componentes. De ellas se elaboraron esquemas con el objetivo de aumento a 45X y utilizando una cámara lúcida.

Las muestras se obtuvieron dibujando en hojas de papel las neuronas que se observaron de las preparaciones, de manera que a partir de esos dibujos se pudieran realizar mediciones. Para ello, se utilizó un microscopio de luz modelo Spencer de American Optical Co., al que se le ajustó una cámara lúcida, con la cual se observaba la preparación histológica al mismo tiempo que se podía ver el movimiento del lápiz trazando el contorno de la imagen neuronal sobre el papel al dibujarla.

El número de neuronas que se dibujaron para cada núcleo de cada condición y edad varió dependiendo de la cantidad de neuronas en buen estado que se pudieran localizar. Al respecto, se observó que en una misma preparación podían localizarse varias neuronas de un núcleo en óptimo estado para tomarse como muestras, mientras de otro núcleo vecino no se localizaba ninguna o escasamente una o dos. Se restringió en estos casos a 8 como el máximo número de neuronas que podían dibujarse de un mismo núcleo por cada sujeto experimental. Finalmente, el número total de neuronas por núcleo,

por condición y por edad, tuvo que ajustarse a 25 para poder someter los valores a un análisis de multivarianza*.

Medidas Morfométricas

De cada neurona dibujada se midió el área somática y el área dendrítica por medio de un analizador gráfico Ladd conectado a una calculadora de áreas Ladd No. 1830-F22. Para obtener el valor del área somática se recorrió con un lápiz como el perímetro del soma sobre la superficie del analizador. Inmediatamente, aparecía en la calculadora el valor correspondiente al área recorrida. Para obtener el valor del área dendrítica se trazaron en el esquema de cada neurona, líneas uniendo los extremos de las ramas dendríticas más distales. El perímetro resultante se evaluó con este aparato recorriéndolo con un lápiz como sobre la superficie del analizador de la misma manera que con el soma (ver Fig.4).

De las neuronas dibujadas también se contó el número de ramas dendríticas: de primer orden, de segundo orden, de tercer orden y así en adelante hasta el séptimo orden, así como la suma del número total de ramas para cada neurona (ver Fig.5). Las ramas que surgen del soma se consideraron de primer orden o primarias; las ramas que surgen de las primarias son de segundo orden o

*De acuerdo al Diccionario de la Academia de la Lengua Española, el término correcto debiera ser "variancia", sin embargo, debido a que en los libros de estadística se ha adoptado el término varianza, se utilizará este a lo largo de este trabajo.

secundarias, las que surgen de éstas son terciarias o de tercer orden y así sucesivamente.

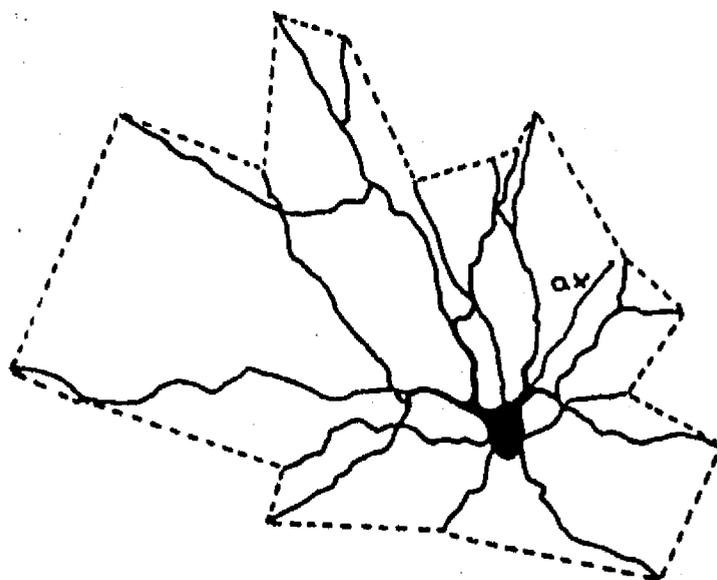


Fig.4.- Esquema de una neurona, cuyos extremos más distales están unidos con líneas que demarcan el área dendrítica. En ésta y en las figuras siguientes, ax=axón.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos para el peso corporal y el peso cerebral de ambos grupos se compararon con un análisis de varianza de 2 factores (nutrición y edad), con el cual se determinó el efecto global de estos factores sobre ambas variables. Para determinar el efecto específico de cada factor en cada uno de los días estudiados se utilizó la prueba de Newman-Keuls (Zar,1974). De igual manera se analizaron los resultados obtenidos para el área

somática y el área dendrítica de cada núcleo.

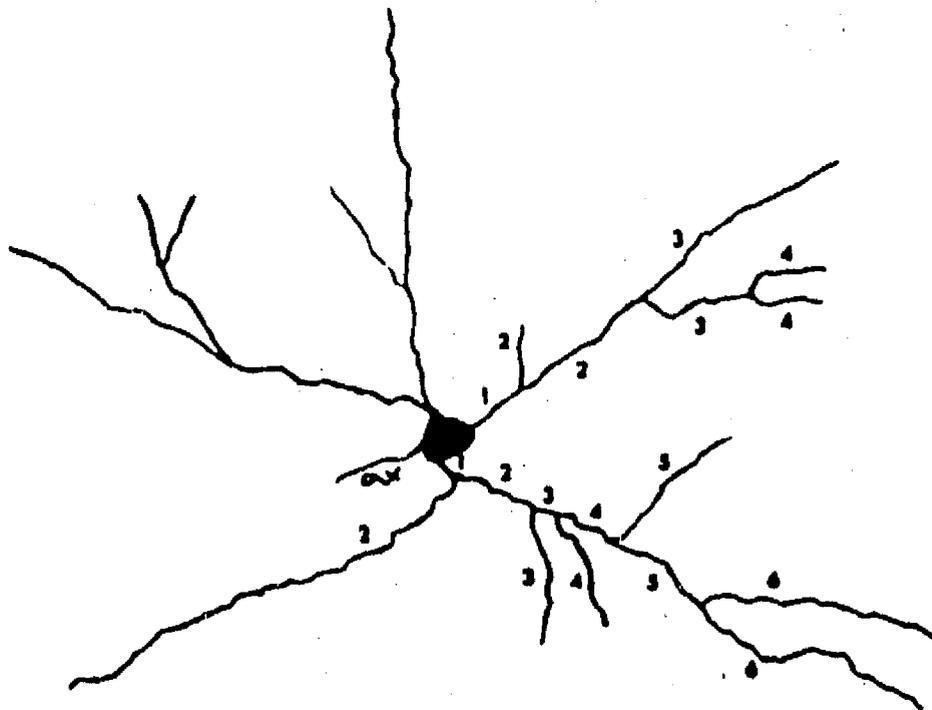


Fig. 5.- Procedimiento con el cual se clasificaron los órdenes de las ramas dendríticas.

Los datos del conteo de ramas dendríticas para cada núcleo se compararon con un análisis de multivarianza, con el cual se determina el efecto de los dos factores de este estudio, la desnutrición y la edad, sobre todas las ramas dendríticas. Con esta prueba se obtiene también un índice de correlación, llamado correlación canónica, que señala en caso de haber diferencias significativas, qué ordenes de ramas dendríticas contribuyeron más a dicha diferencia.

Para determinar las diferencias entre desnutridos y controles para cada orden de ramas dendríticas, se utilizó un análisis de varianza de 2 factores y para determinar las diferencias específicas entre grupos a cada edad se utilizó la prueba de Newman-Keuls.

RESULTADOS

Peso Corporal

El peso corporal al día de sacrificio fue menor en las crías desnutridas en relación a sus controles en las tres edades estudiadas (ver Tabla 1A). Con el análisis de varianza se pudo constatar que estas diferencias eran altamente significativas (ver Tabla 1B). Asimismo, fueron significativas las diferencias asociadas con la edad, lo cual era de esperarse ya que estas crías estaban en su fase de crecimiento acelerado y resultó también significativa la interacción de ambos factores.

Paralelamente al bajo peso corporal se observó en las crías desnutridas que su talla corporal aumenta en menor escala durante el desarrollo, esto fue una observación informal ya que no se tomaron mediciones somatométricas sistematizadas, pero que asociada a los datos del peso corporal resultó evidente la menor talla de los desnutridos en relación a sus controles. Se observó también que la implantación del pelo es más rala y aparentemente es más delgado, opaco y crespo que el de las crías bien alimentadas. Alrededor de los días 9 a 16 de edad se observó que en los desnutridos se retrasa la apertura del conducto auditivo y de los párpados por 1 a 2 días. Estas mediciones ya las hemos reportado en otro trabajo (Escobar y Salas, 1987) pero se realizaron estas observaciones informalmente para tener un índice

mas del retraso en el desarrollo asociado a la desnutricion.

A. PESO CORPORAL
(Gramos)

EDAD (dias)	CONTROLES (n=8)	DESNUTRIDOS (n=8)	DIF D/C	NK
12	19.85 ± 0.95	14.90 ± 1.04	-25%	p<0.003
20	37.33 ± 1.30	28.12 ± 0.59	-25%	p<0.001
40	100.12 ± 3.61	81.53 ± 3.09	-19%	p<0.002

B. VALORES DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL PESO CORPORAL

FACTOR	GR. LIB.	F	p
NUTRICION	1,42	40.18	<0.0001
EDAD	2,42	674.57	<0.0001
NUTR. X EDAD	2,42	5.46	<0.008

Tabla 1. A.- Peso corporal (en gramos) de controles y desnutridos para las tres edades estudiadas, con una estimación de la diferencia proporcional del peso de los desnutridos (Dif D/C) en relación a los controles y el nivel de significancia de acuerdo a la prueba estadística de Newman-Keuls (NK). B.- Resultados del análisis de varianza de dos factores para determinar los efectos sobre el peso corporal producidos por la nutrición (2 niveles), la edad (3 niveles) y la interacción de ambos factores.

Peso Cerebral

El peso cerebral al momento del sacrificio fue significativamente inferior en el grupo desnutrido a los 20 y 40 días de edad y aunque no fue significativo a los 12 días, se observó una tendencia en el mismo sentido (ver Tabla 2A). El análisis de varianza mostró diferencias significativas en el peso cerebral entre desnutridos y controles asociadas a la desnutrición, así como asociadas a la edad de las crías (ver Tabla 2B) y no se observó un efecto significativo asociado a la interacción de los dos factores.

Observaciones al Microscopio

Utilizando 150 aumentos (15X en el ocular y 10X en el objetivo), se elaboró una panorámica general de la amígdala con la cual se reconocieron los núcleos seleccionados para este estudio y se pudo apreciar el tipo de neuronas que componían a cada uno (ver Fig.6). Posteriormente la inspección del paraje amigdalino se continuó realizando, aunque sin dibujarlo, para seleccionar de cada corte las neuronas que se habrían de tomar como muestra.

A. PESO CEREBRAL
(Gramos)

EDAD (días)	CONTROLES (n=8)	DESNUTRIDOS (n=8)	DIF D/C	NK
12	0.98 ± 0.04	0.90 ± 0.04	-8%	N.S
20	1.46 ± 0.02	1.38 ± 0.02	-5%	p<0.01
40	1.73 ± 0.03	1.60 ± 0.02	-7%	p<0.007

B. VALORES DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL PESO CEREBRAL

FACTOR	GR. LIB.	F	p
NUTRICION	1,42	12.33	<0.001
EDAD	2,42	249.63	<0.0001
NUTR. X EDAD	2,42	0.30	N.S

Tabla 2. A.- Peso cerebral (en gramos) de controles y desnutridos para las tres edades estudiadas, con una estimación de la diferencia proporcional del peso cerebral de los desnutridos (dif D\C) en relación a los controles y el nivel de significancia de acuerdo a la prueba estadística de Newman-Keuls (NK). B.- Resultados del análisis de varianza de dos factores para determinar los efectos sobre el peso cerebral producidos por la nutrición (2 niveles), la edad (3 niveles) y la interacción de ambos factores. Se anotó N.S. cuando las diferencias no fueron significativas.

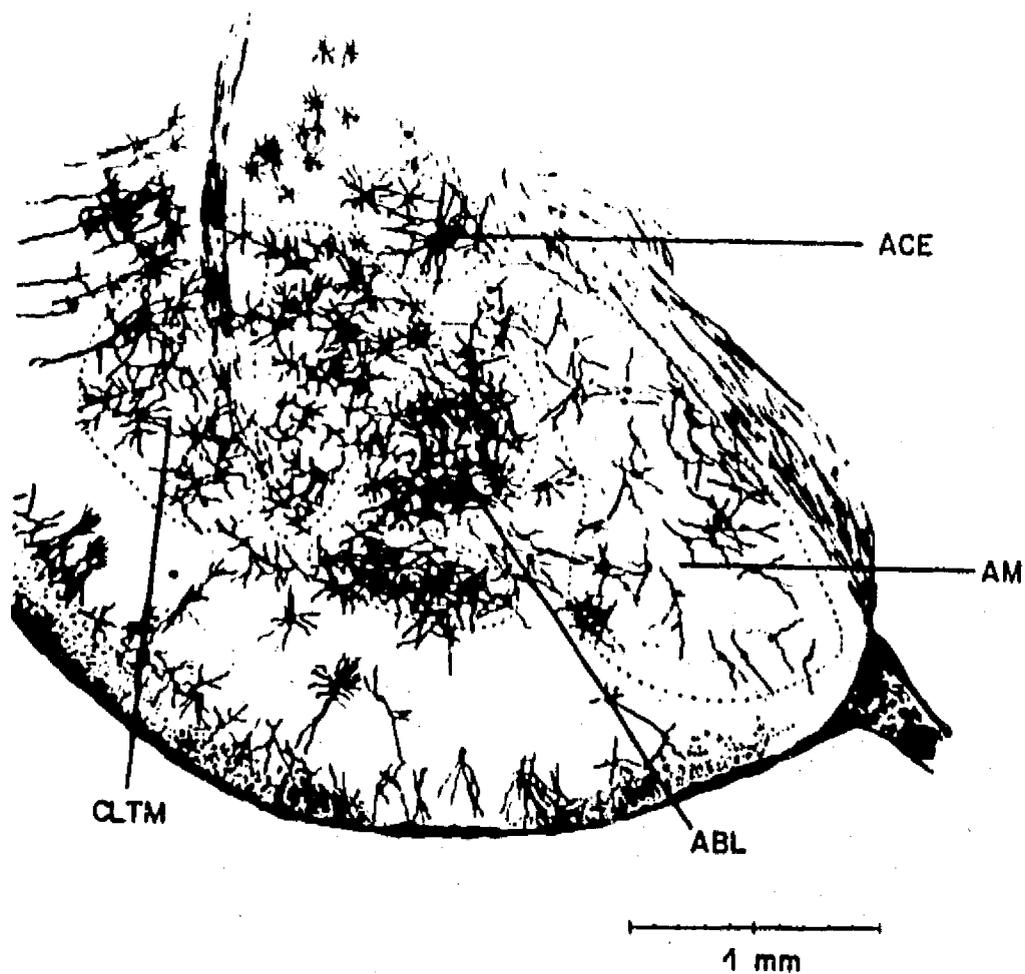


Fig. 6.- Panorámica de los núcleos de la amígdala de la rata de 40 días a 150 aumentos (ABL= núcleo basolateral, ACE= núcleo central, AM= núcleo medial, CLTM=claustrum).

Núcleo Basolateral de la Amígdala

El núcleo ABL de la amígdala tiene una ubicación ventrolateral en el complejo amigdalino, aunque en su porción posterior se extiende a la zona central. Es componente del

complejo basolateral y se ubica entre el núcleo basomedial y el lateral posterior. En su extremo lateral limita con la cápsula externa y su extremo medial limita con el AM y el ACE (ver Fig.6). Las neuronas que se seleccionaron de este núcleo a la edad de 12 días se tomaron entre los planos A 3.2mm y A 2.3mm de acuerdo al mapa estereotáxico de Sherwood y Timiras (1970). En cerebros de 20 días se consideraron los planos A 4.4mm al A 3.5mm y en cerebros de 40 días las muestras se tomaron de A 5.0mm al A 4.1mm.

Este núcleo está formado por tres tipos de neuronas. Las tipo I son de soma grande (15 a 18 μ m de diámetro), son multipolares y sus dendritas primarias son gruesas y muy ramificadas, estas dan origen a dendritas más delgadas y ramificadas también. Las neuronas tipo II son de soma pequeño (9 a 12 μ m de diámetro) y en general son bipolares o bipenachadas. Las neuronas tipo III son células estrelladas de soma y área dendrítica pequeñas y son las menos numerosas en este núcleo. Con el fin de estandarizar los valores para su análisis, se consideraron en este trabajo únicamente las neuronas tipo I que son también las más numerosas en esta estructura (ver Fig.7).

Área somática y área dendrítica.-

Los resultados obtenidos con el análisis de varianza mostraron que en global el área somática y el área dendrítica de las neuronas tipo I del núcleo ABL de la amígdala, sufren alteraciones por la desnutrición neonatal y que también presentan

modificaciones asociadas a la edad (ver tabla 3). Estas diferencias resultaron altamente significativas, aunque no resultaron así los valores correspondientes a la interacción de ambos factores.

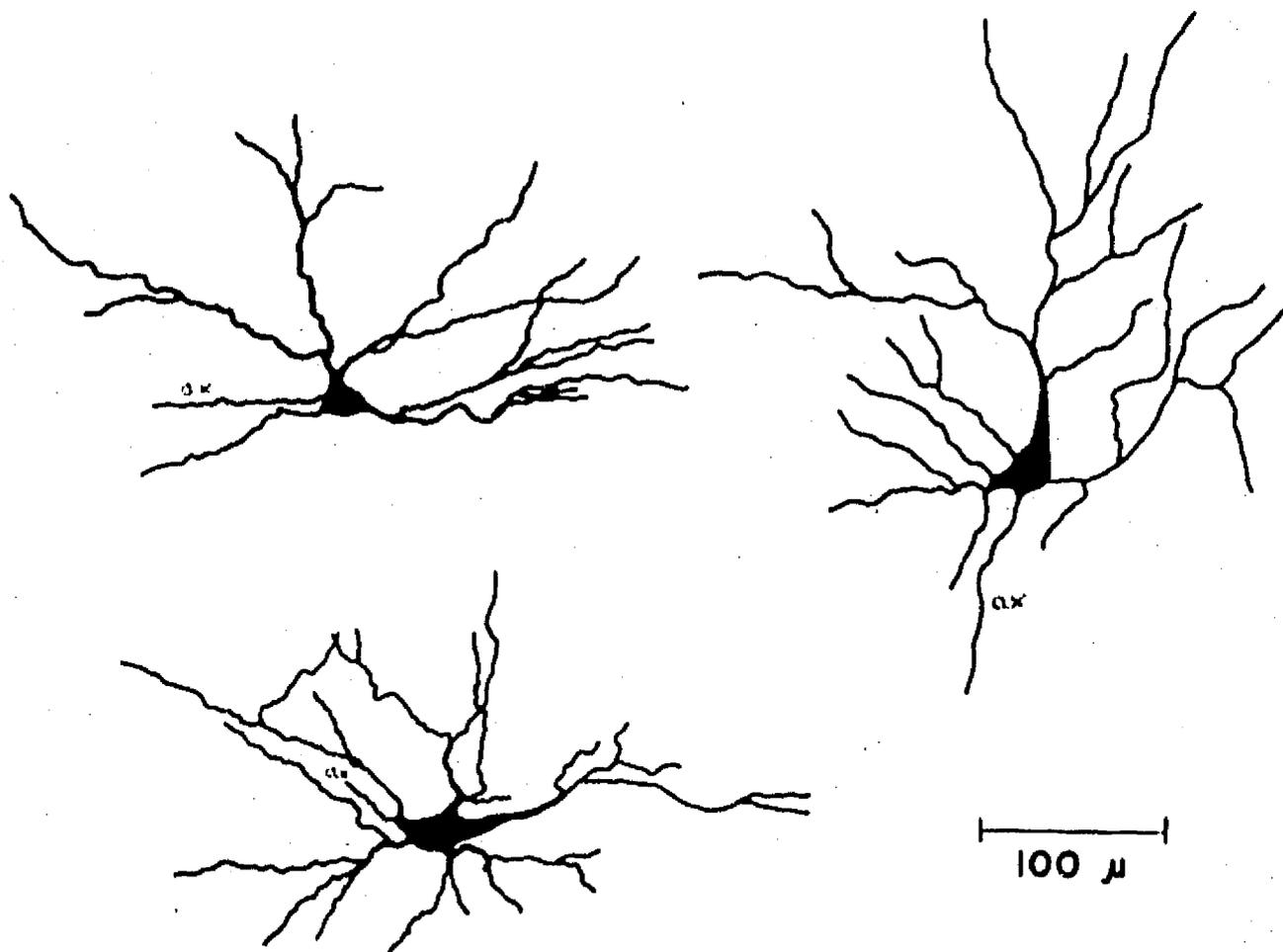


Fig.7.- Células tipo I multipolares características del ABL de la amígdala, tomadas de preparaciones control de 40 días.

En las tres edades estudiadas se determinó una tendencia muy consistente de los desnutridos a tener menor área somática y menor área dendrítica en relación a sus controles (ver Fig.8).

A. VALORES DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL AREA SOMATICA

FACTOR	GR.LIB.	F	p
NUTRICION	1,42	10.15	<0.002
EDAD	2,42	4.45	<0.01
NUTR.X EDAD	2,42	2.57	N.S

B. VALORES DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL AREA DENDRITICA

FACTOR	GR.LIB.	F	p
NUTRICION	1,144	13.66	<0.0001
EDAD	2,144	12.66	<0.0001
NUTR.X EDAD	2,144	2.25	N.S

Tabla 3. Resultados obtenidos con un análisis de varianza de 2 factores (NUTRICION[2] X EDAD[3]). A. Para los valores del área somática y B. para los valores del área dendrítica del ABL de la amígdala.

En el ABL el área somática promedio en los controles osciló entre 317 μ m² y 415 μ m² mientras en los desnutridos este valor osciló entre 267 μ m² y 310 μ m² en las tres edades. El área dendrítica de los controles fue aproximadamente de 21 350 μ m² a los 12 días y aumentó a 26 500 μ m² para los 30 y 40 días. En los desnutridos el área dendrítica aumentó de 16 600 μ m² a los 12 días a 25 500 μ m² a los 40 días. Estas diferencias se analizaron con la prueba de Newman-Keuls y se determinó que para el área somática

las diferencias son significativas a los 20 días de edad ($p < 0.0002$), y que para el área dendrítica los cambios son significativos a los 12 ($p < 0.01$) y 20 ($p < 0.001$) días de edad (ver Fig.8).

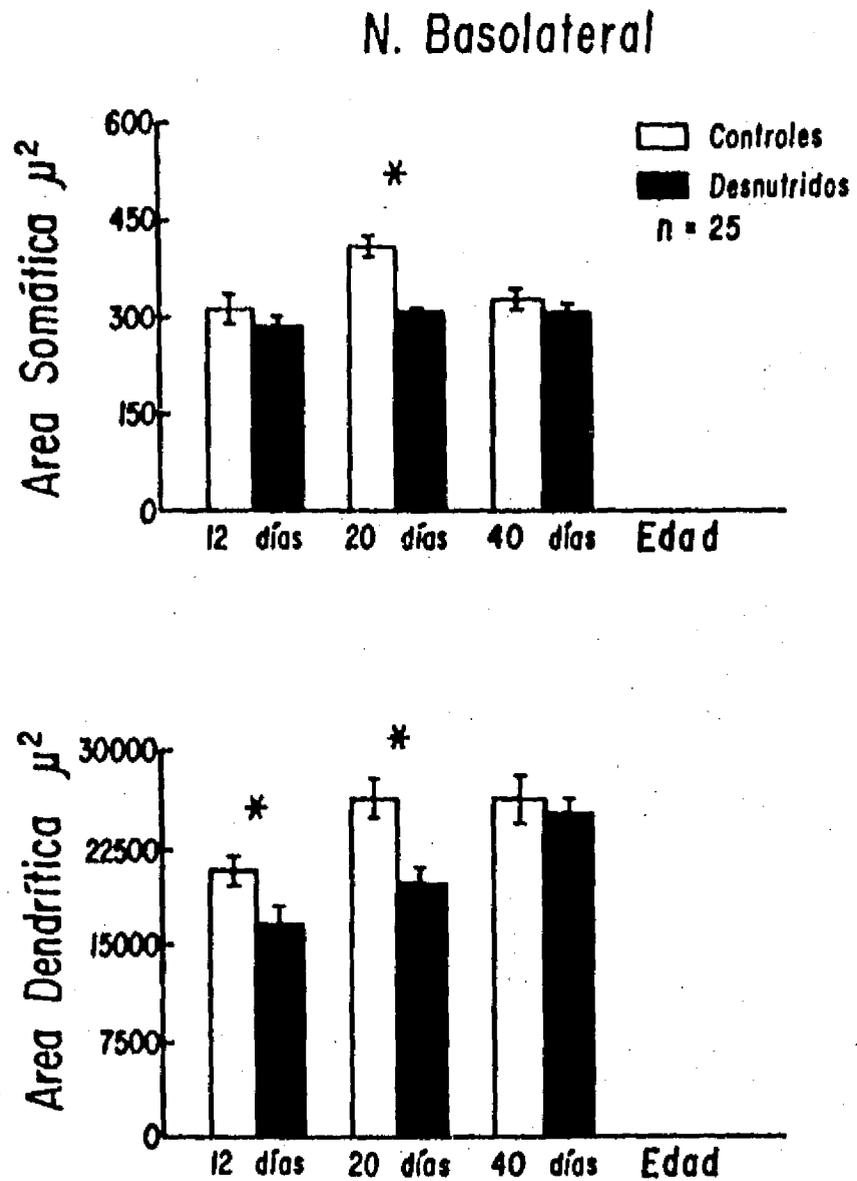


Fig.8.- Efectos de la desnutrición neonatal sobre el Área somática y el área dendrítica del ABL de la amígdala de la rata a los 12, 20 y 40 días de edad. En ésta y las siguientes figuras el asterisco marca las columnas en donde la diferencia entre desnutridos y sus controles fue significativa con $p < 0.01$.

Número de ramas dendríticas.— Los resultados del análisis de multivarianza indicaron que la desnutrición es un factor que altera significativamente el número de ramas dendríticas de este núcleo (Wilks' Lambda=.855; $F(7,138)3.3$ $p<0.003$). Así mismo, indicó que las ramas dendríticas de este núcleo se modifican como resultado de la edad (Wilks' Lambda=.77; $F(14,276)2.64$ $p<0.001$) y como resultado de la interacción de la nutrición y la edad (Wilks' Lambda=0.83; $F(14,276)1.82$ $p<0.03$).

Con el análisis de varianza de 2 factores y los correlatos canónicos resultantes de este análisis se determinó en específico cuales órdenes de ramas son los que más se modifican a consecuencia de la desnutrición y la edad (ver Tabla 4). De este análisis se pudo concluir que las ramas de primer, segundo, tercer y cuarto orden son las que sufren un impacto más intenso por la desnutrición y que las de primer y segundo orden a su vez, junto con las ramas de sexto orden sufren modificaciones asociadas a la edad (ver Tabla 4B).

Con la prueba de Newman-Keuls se pudo determinar en específico para cada día y cada orden de ramas dendríticas las diferencias entre grupos desnutridos y controles. Como se puede apreciar en la figura 9, el número total de ramas dendríticas aumentó con la edad y en las tres edades estudiadas se observó en los desnutridos una tendencia constante a tener menor número de ramas dendríticas que sus controles. En el día 12 resultaron

A. EFECTOS ASOCIADOS A LA NUTRICION

ORDEN DENDRITICO	F(1,144)	P	CORR.CANONICA
RAMAS 1	5.54	<0.02	0.47*
RAMAS 2	16.00	<0.0001	0.81*
RAMAS 3	7.20	<0.008	0.54*
RAMAS 4	7.65	<0.006	0.56*
RAMAS 5	1.02	N.S.	0.20
RAMAS 6	2.21	N.S.	0.30
RAMAS 7	4.17	<0.04	0.41
TOTALES	17.41	<0.0001	

B. EFECTOS ASOCIADOS A LA EDAD

ORDEN DENDRITICO	F(2,144)	P	CORR.CANONICA
RAMAS 1	4.84	<0.009	0.56*
RAMAS 2	4.37	<0.01	0.51*
RAMAS 3	2.25	N.S.	0.38
RAMAS 4	2.08	N.S.	0.06
RAMAS 5	4.23	<0.01	0.28
RAMAS 6	5.61	<0.001	0.55*
RAMAS 7	1.04	N.S.	0.27
TOTALES	5.98	<0.003	

Tabla 4.- Resultados del análisis de varianza y correlatos canónicos para los órdenes de ramas dendríticas. Se marcaron con un asterisco los valores correspondientes a las ramas que más contribuyen a las diferencias reflejadas en el análisis de multivarianza.

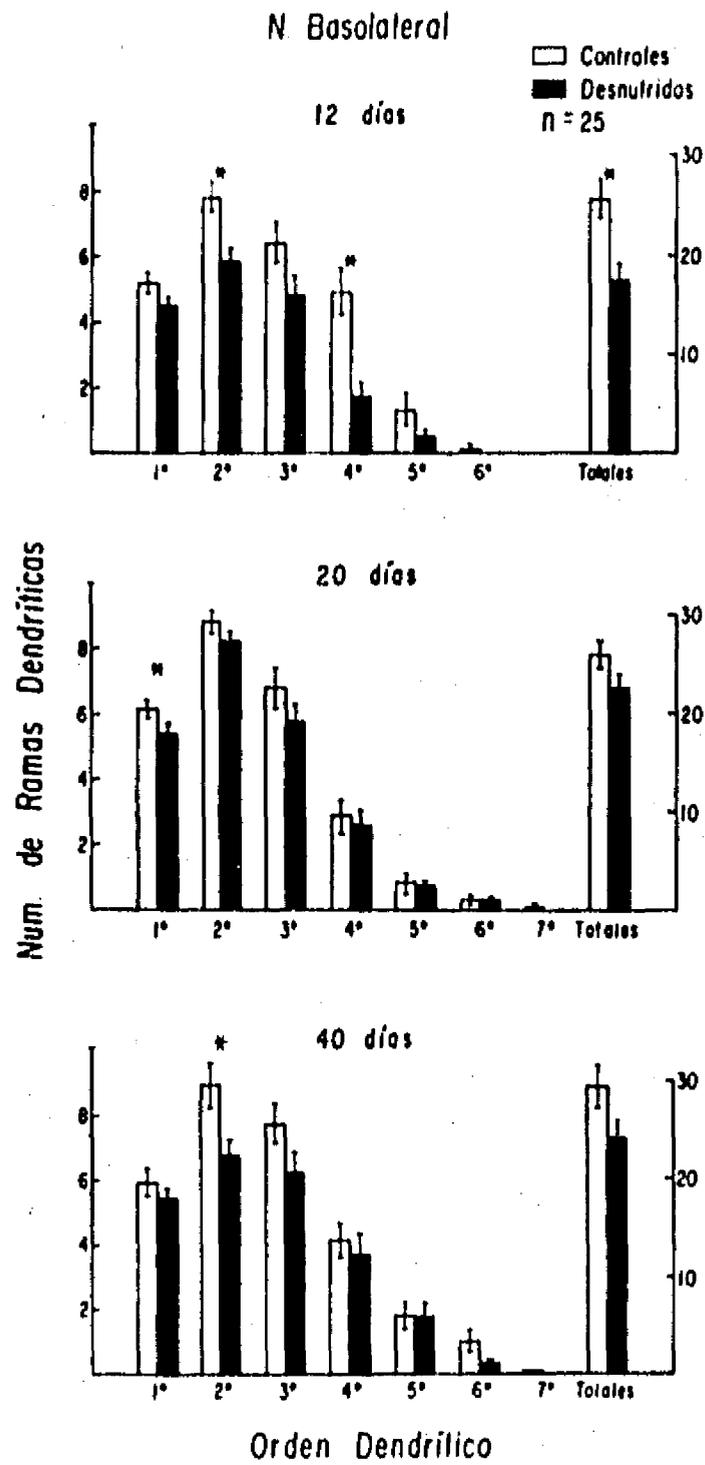


Fig.9. Cantidad de ramas para cada orden dendrítico en ratas desnutridas por privación y sus controles a los 12, 20 y 40 días de edad.

significativas las diferencias en las ramas secundarias ($p < 0.002$), en las ramas cuaternarias ($p < 0.001$) y en las ramas totales ($p < 0.001$). Igualmente hubo diferencias significativas en el día 20 en las ramas de primer orden ($p < 0.05$) y al día 40 en las ramas de segundo orden ($p < 0.03$).

Núcleo Central de la Amígdala

El núcleo ACE se sitúa en el extremo superior medial de la amígdala (ver Fig.6). En toda su extensión anteroposterior limita en su extremo superior con el putamen y por la similitud de su citoarquitectura, llega a confundirse el límite entre los dos. En su extremo medial limita con las fibras de la estria terminal y en su extremo lateral con el núcleo lateral posterior y el ABL (ver Fig.6). Se trata de un núcleo pequeño en su porción caudal y en su porción dorsal, pero que se ensancha en sus cortes intermedios, por ello el muestreo se realizó en estos últimos cortes. En las ratas de 12 días se consideraron los planos entre A 3.5mm y el A 2.6mm, en ratas de 20 días del A 5.0mm al A 4.1mm y en ratas de 40 días del A 5.3mm al A4.4mm.

El ACE se compone en general de neuronas medianas y grandes con somas de forma ovoide e irregular. Poseen dendritas primarias gruesas que pueden extenderse a grandes distancias del soma ($350\mu\text{m}$). También se observan neuronas más pequeñas muy ramificadas, pero con un radio de alcance muy corto. Estas últimas

se encuentran principalmente en la porción anterior del núcleo. En general el tipo de neuronas es muy similar en todo el núcleo aunque su densidad varía en algunas porciones (McDonald, 1982). En este trabajo se analizaron las neuronas medianas, que son también las más numerosas (ver Fig.10), ya que las muy grandes se restringen a la porción superior medial únicamente y son escasas.

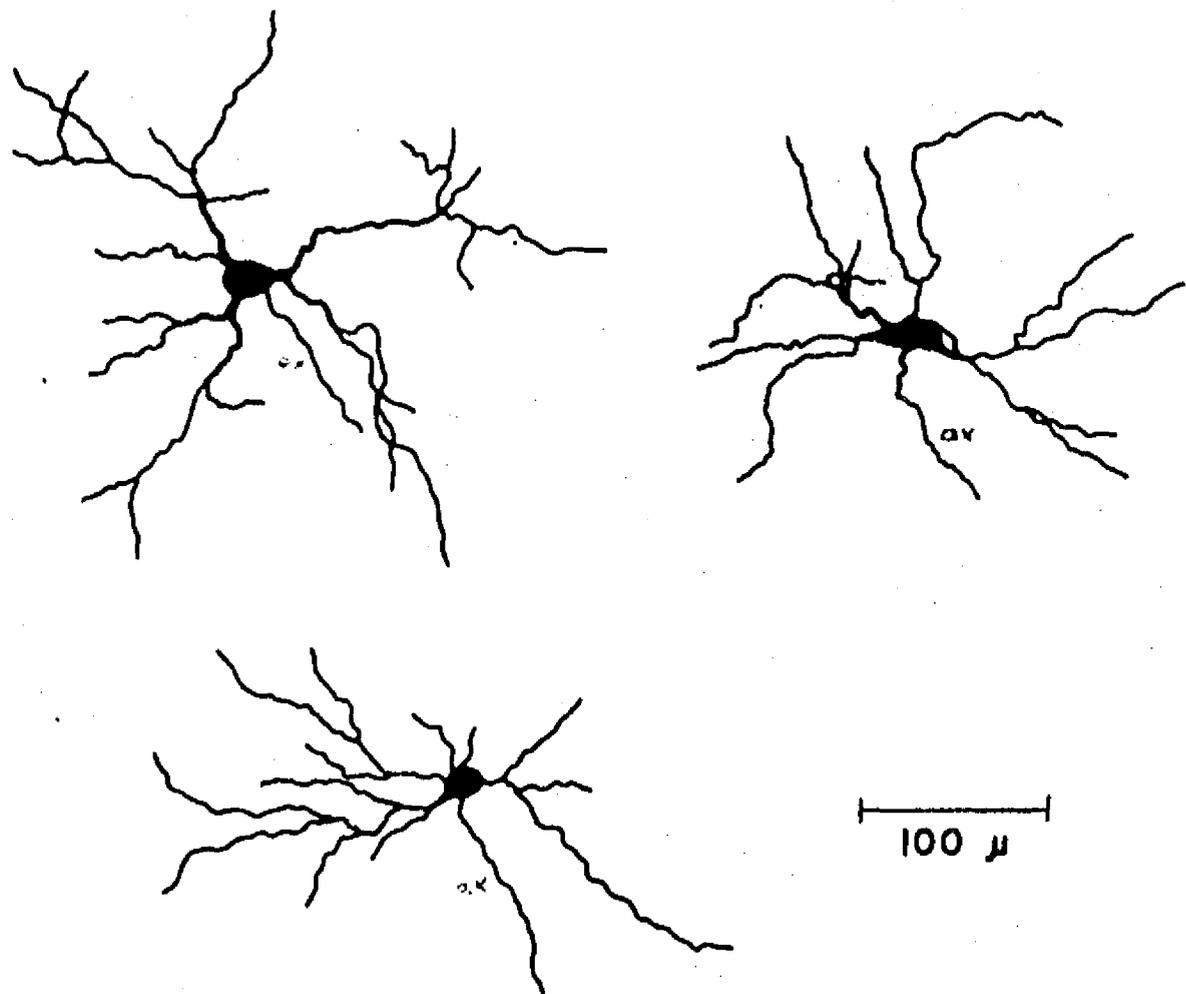


Fig.10.- Neuronas características del ACE de la amígdala, tomadas de preparaciones de 40 días.

Area somática y área dendrítica.-

El análisis de varianza indicó que el área somática y el área dendrítica sufren modificaciones como consecuencia de la desnutrición y también como consecuencia de la interacción de la desnutrición con el factor edad, aunque de una edad a otra no pareció haber cambios importantes (ver Tabla 5).

A los 12 y 20 días de edad, se observó una disminución

A. VALORES DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL AREA SOMATICA

FACTOR	GR.LIB.	F	p
NUTR	1,144	21.95	<0.0001
EDAD	2,144	2.20	N.S
NUTR.X EDAD	2,144	6.60	<0.002

B. VALORES DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL AREA DENDRITICA

FACTOR	GR.LIB.	F	p
NUTR	1,144	31.24	<0.0001
EDAD	2,144	1.84	N.S
NUTR.X EDAD	2,144	7.47	<0.001

Tabla 5. Resultados obtenidos con un análisis de varianza de 2 factores (NUTR [2] X EDAD [3]). A. Para los valores del área somática y B. para los valores del área dendrítica del ACE de la amígdala.

significativa en la extensión del área somática y del área dendrítica de los desnutridos en relación a sus controles (ver Fig.11), que desapareció a los 40 días. El área somática promedio de los controles a los 12 y 20 días osciló entre 370 y 380 μm^2 ,

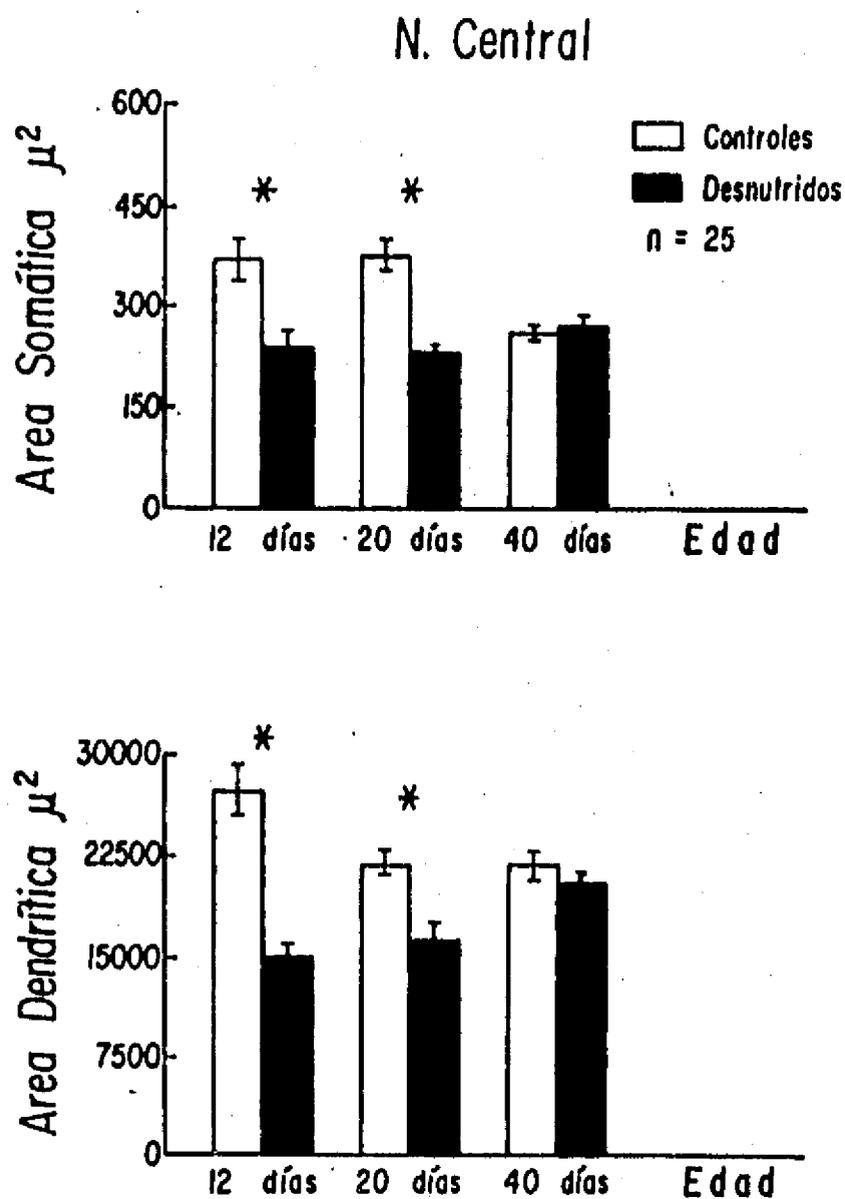


Fig.11.- Valores medios del área somática y del área dendrítica de las neuronas del ACE de la amígdala en las tres edades estudiadas para ratas desnutridas neonatalmente y ratas control.

mientras en los desnutridos alcanzó valores de 240 μm^2 a 245 μm^2 . A los 40 días el área somática de ambos grupos osciló entre 280 μm^2 y 260 μm^2 .

En relación al área dendrítica se observó que en los controles a los 12 días fue de 27 660 μm^2 y bajó para mantenerse a los 20 y 40 días en valores alrededor de las 22 000 μm^2 . Por el contrario, en los desnutridos fue aumentando el valor del área dendrítica de 15 150 μm^2 a los 12 días a 20 630 μm^2 a los 40 días. De manera que se acercó a los valores de los controles, pero quedó en las tres edades por debajo de esos valores.

Número de ramas dendríticas.-

Los resultados del análisis de multivarianza indicaron que la desnutrición ejerce un efecto significativo sobre el número de ramas dendríticas del ACE de la amígdala (Wilks' Lambda =.902; $F(7,138)$ 2.15, $p < 0.04$). También indicó que la edad influye importantemente sobre el desarrollo de las ramas dendríticas (Wilks' Lambda=.65; $F(14,276)$ 4.73, $p < 0.0001$), ya que este valor aumenta con la edad.

Con el análisis de varianza de 2 factores realizado para cada orden dendrítico, se determinó que la desnutrición altera especialmente las ramas próximas al soma y que la edad ejerce una influencia aún más intensa sobre estas mismas (ver Tabla 6).

A.EFECTOS ASOCIADOS A LA NUTRICION

ORDEN DENDRITICO	F(1,144)	P	CORR.CANONICOS
RAMAS 1	4.92	<0.02	0.56*
RAMAS 2	1.06	N.S.	0.26
RAMAS 3	4.70	<0.03	0.54*
RAMAS 4	5.69	<0.01	0.60*
RAMAS 5	.82	N.S.	0.22
RAMAS 6	.20	N.S.	0.11
RAMAS 7	1.00	N.S.	0.25
TOTALES	8.75	<0.004	

B.EFECTOS ASOCIADOS A LA EDAD

ORDEN DENDRITICO	F(2,144)	P	CORR.CANONICOS
RAMAS 1	7.25	<0.001	0.45*
RAMAS 2	13.78	<0.0001	0.63*
RAMAS 3	19.33	<0.0001	0.75*
RAMAS 4	11.89	<0.0001	0.59*
RAMAS 5	5.30	<0.006	0.35
RAMAS 6	1.42	N.S.	0.20
RAMAS 7	1.00	N.S.	0.12
TOTALES	30.52	<0.001	

Tabla 6.- Resultados del análisis de varianza y correlatos canónicos para las ramas dendríticas del ACE. El asterisco indica los valores que contribuyen más a las diferencias reflejadas en el análisis de multivarianza.

En el análisis por cada día y cada orden dendrítico fue muy consistente la tendencia del grupo desnutrido a obtener valores menores que sus controles, a pesar que pocos puntos resultaron estadísticamente significativos (ver Fig.12). A los 12 días fueron

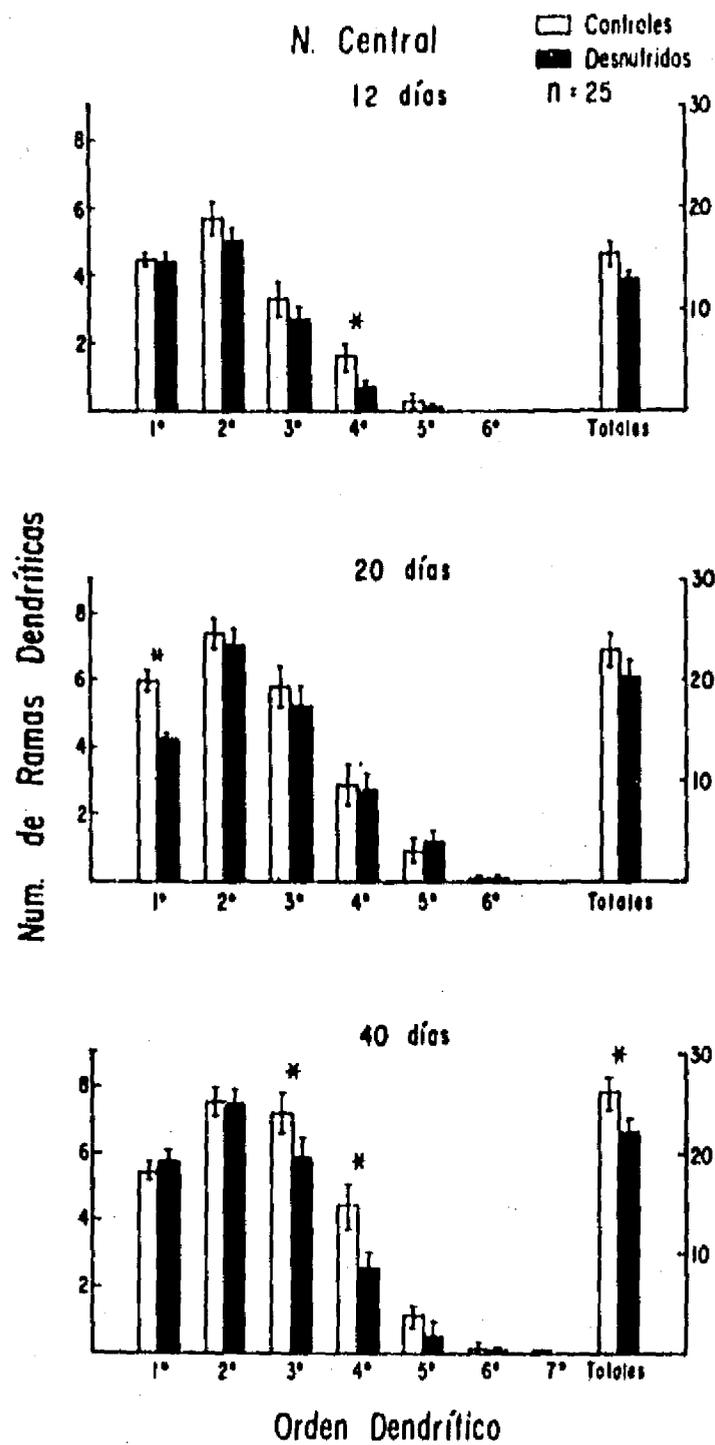


Fig.12.- Número de ramas dendríticas del ACE de la amígdala a tres edades del desarrollo en ratas desnutridas neonatalmente y sus controles. Los asteriscos señalan los puntos donde las diferencias entre los dos grupos fueron significativas.

significativas las diferencias entre desnutridos y controles en las ramas de cuarto orden ($p < 0.04$), a los 20 días fue significativa la diferencia en las ramas primarias ($p < 0.0001$) y a los 40 días en las ramas terciarias ($p < 0.03$), en las cuaternarias ($p < 0.02$) y en la suma total de ramas ($p < 0.05$).

Núcleo Medial de la Amígdala

El núcleo AM se localiza en el extremo inferior medial de la amígdala, y se extiende paralelamente al tracto óptico y al borde inferior del lóbulo temporal; lateralmente, limita con el núcleo basomedial y con el núcleo cortical de la amígdala y es uno de los núcleos más extensos en el plano anteroposterior de la amígdala (ver Fig. 6). Las neuronas que se dibujaron de este núcleo se tomaron de los planos A 3.2mm a A 2.3mm en crías de 12 días, de A 4.4mm a A 3.5mm en crías de 20 días y de A 5.0mm a A 4.1mm en crías de 40 días.

En el AM se observaron principalmente neuronas de soma fusiforme o piramidal y de menor extensión que los observados en otros núcleos. Del soma surgen 2 ó 3 dendritas primarias gruesas y muy poco ramificadas, pero que se extienden a grandes distancias del soma (Fig. 13). En la mayoría de estas neuronas sus dendritas están bastante espaciadas entre sí, de manera que sólo eventualmente se cruzan algunos de sus procesos. También llegan a

observarse escasamente algunas neuronas multipolares, de radio dendrítico muy reducido, que no se consideraron para este estudio.

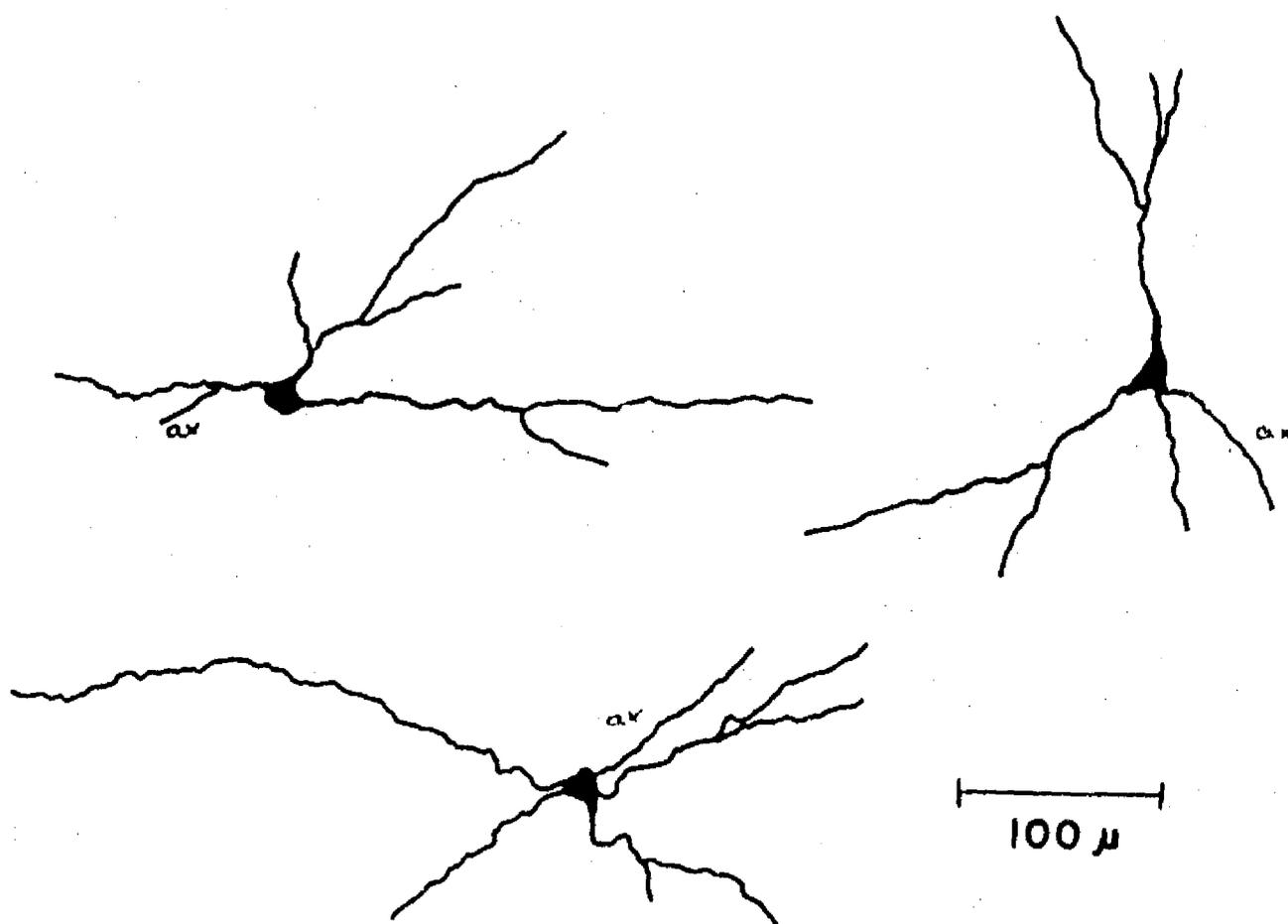


Fig.13.- Neuronas características del AM de la amígdala, tomadas de preparaciones de 40 días de edad.

Area somática y área dendrítica.-

En el AM el soma de las neuronas se altera significativamente por efectos de la desnutrición, de la edad y de la interacción de ambos factores (ver Tabla 7). Por el contrario, la extensión del área dendrítica sufre únicamente cambios importantes como consecuencia de la desnutrición y no por el factor edad o la interacción de ambos.

A. VALORES DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL AREA SOMATICA

FACTOR	GR.LIB.	F	p
NUTR	1,144	40.10	<0.0001
EDAD	2,144	14.97	<0.0001
NUTR. X EDAD	2,144	3.11	<0.04

B. VALORES DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL AREA DENDRITICA

FACTOR	GR.LIB.	F	p
NUTR	1,144	10.78	<0.001
EDAD	2,144	2.59	<0.07
NUTR. X EDAD	2,144	1.91	<0.15

Tabla 7. Resultados obtenidos con un análisis de varianza de 2 factores (NUTR [2] X EDAD [3]). A. Para los valores del área somática y B. para los valores del área dendrítica del AM de la amígdala.

El área somática de los controles fue de $317\mu\text{m}^2$ a los 12 días, bajó a $302\mu\text{m}^2$ a los 20 días y volvió a bajar, de manera que a los 40 días era de $226\mu\text{m}^2$. En los desnutridos se observó un comportamiento similar, pues también fue bajando el valor del área somática de $242\mu\text{m}^2$ a los 12 días a $204\mu\text{m}^2$ a los 40 días. Por otro lado, el área dendrítica en los controles se modificó muy poco en las tres edades, ésta osciló entre $22\ 550\mu\text{m}^2$ y $24\ 150\mu\text{m}^2$. Por el contrario, en los desnutridos el área dendrítica fue creciendo con la edad, de manera que de $16\ 100\mu\text{m}^2$ a los 12 días se incrementó a $22\ 420\mu\text{m}^2$ a los 40 días (ver Fig.14).

A los 12 y 20 días de edad la reducción del área somática de los desnutridos fue significativa en relación a sus controles ($p < 0.0001$), pero a los 40 días esta diferencia había desaparecido. En los valores del área dendrítica se observó el mismo comportamiento, ya que fueron significativas las diferencias entre ambos grupos a los 12 y 20 días de edad ($p < 0.01$), pero no hubo diferencia alguna a los 40 días (ver Fig.14).

Número de ramas dendríticas.-

En el número de ramas dendríticas de este núcleo no se observaron efectos significativos asociados a la desnutrición con el análisis de multivarianza, aunque sí hubo efectos significativos asociados a la edad (Wilks' Lambda=.836; $F[12,278]2.16$ $p < 0.01$), y a la interacción de la edad con la nutrición (Wilks' Lambda=.824; $F[12,278]2.35$ $p < 0.007$).

N. Medial

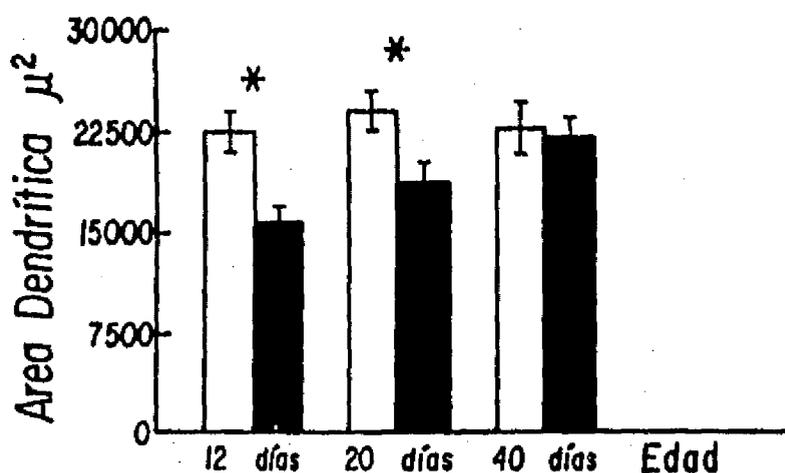
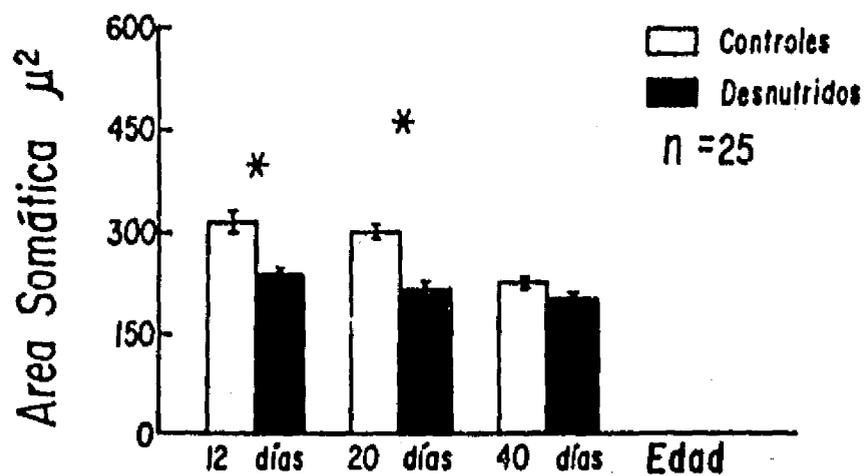


Fig.14.- Área somática y área dendrítica de neuronas del AM de la amígdala en ratas desnutridas neonatalmente y sus controles en tres edades.

Así como se observó con el análisis de multivarianza, que la desnutrición no modifica el número de ramas dendríticas del AM, el análisis de varianza reflejó el mismo fenómeno, de manera que no

se observaron diferencias significativas entre desnutridos y controles en el análisis por órdenes dendríticos. En relación al factor edad, se obtuvo significancia únicamente en las ramas primarias y en relación a la interacción de ambos factores si resultaron significativos los valores para las ramas primarias, secundarias y totales (ver Tabla 8).

Con el análisis de Newman-Keuls, que determina diferencias específicas para cada día y cada orden dendrítico se observó que únicamente en el día 20 de edad hay una tendencia constante de los desnutridos a tener reducido el número de ramas dendríticas. A esta edad, son significativas las diferencias entre desnutridos y controles en las ramas primarias y secundarias ($p < 0.001$) así como en las ramas totales ($p < 0.01$). Por el contrario, a los 12 y 40 días no hay una tendencia definida y únicamente fueron significativas las diferencias en las ramas de cuarto orden a los 12 días de edad (ver Fig.15).

A. EFECTOS ASOCIADOS A LA NUTRICION

ORDEN DENDRITICO	F (1,144)	P	CORR. CANONICOS
RAMAS 1	1.95	N.S.	0.46
RAMAS 2	0.43	N.S.	0.21
RAMAS 3	0.63	N.S.	0.26
RAMAS 4	4.30	<0.04	0.68*
RAMAS 5	0.30	N.S.	0.18
RAMAS 6	0.00	N.S.	0.00
TOTALES	2.66	N.S.	

B. EFECTOS ASOCIADOS A LA EDAD

ORDEN DENDRITICO	F (2,144)	P	CORR. CANONICOS
RAMAS 1	4.21	<0.01	0.60*
RAMAS 2	0.84	N.S.	0.01
RAMAS 3	0.35	N.S.	0.02
RAMAS 4	3.00	<0.05	- 0.52*
RAMAS 5	0.67	N.S.	0.16
RAMAS 6	0.50	N.S.	- 0.07
TOTALES	0.15	N.S.	

C. EFECTOS ASOCIADOS A LA INTERACCION
NUTRICION X EDAD

ORDEN DENDRITICO	F (2,144)	P	CORR. CANONICA
RAMAS 1	6.84	<0.001	0.77
RAMAS 2	5.28	<0.006	0.67
RAMAS 3	2.53	N.S.	0.00
RAMAS 4	2.12	N.S.	-0.29
RAMAS 5	0.98	N.S.	-0.12
RAMAS 6	1.50	N.S.	-0.33
TOTALES	3.45	<0.03	

Tabla 8.- Resultados del análisis de varianza y correlación canónica para los órdenes de ramas dendríticas en AM. El asterisco señala los órdenes que por sus valores contribuyeron más a las diferencias reflejadas en el análisis de multivarianza.

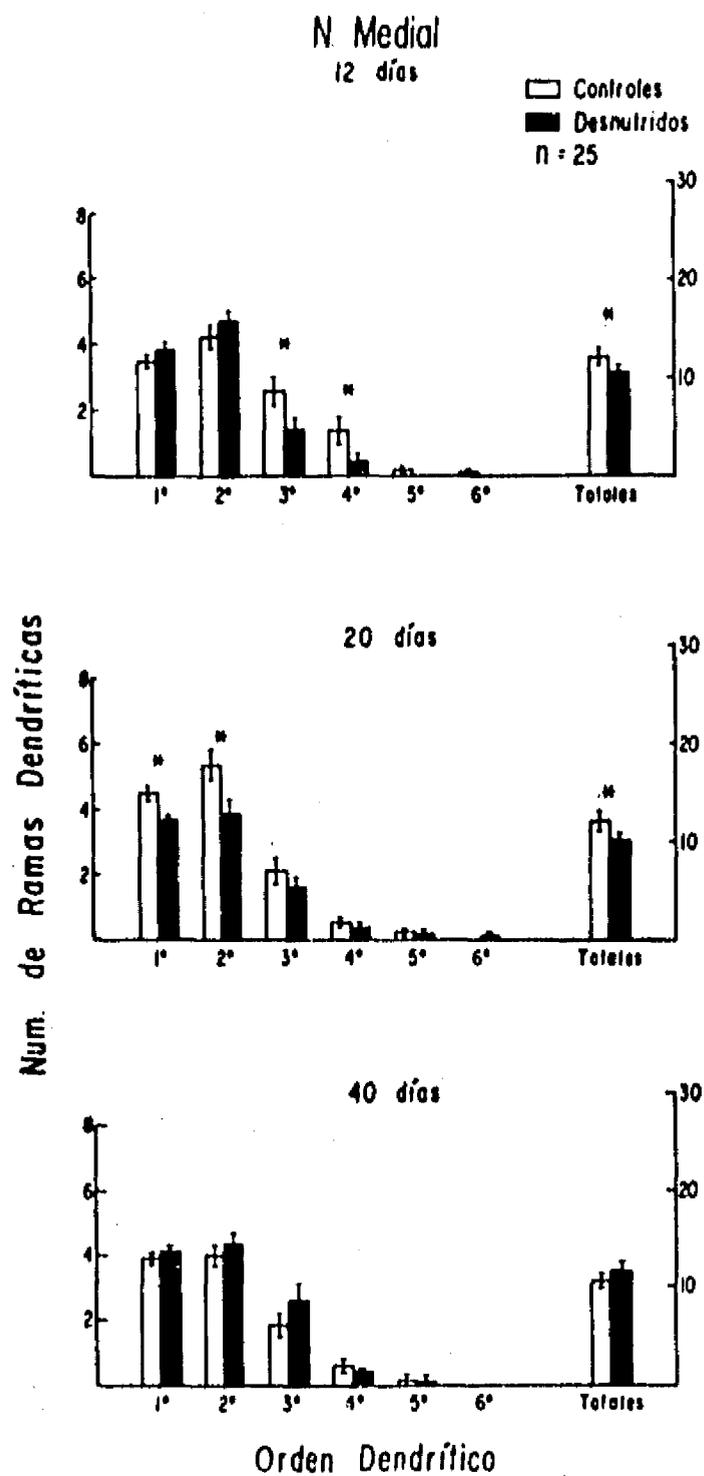


Fig.15.- Número de ramas dendríticas en el AM de la amígdala en ratas desnutridas neonatalmente y sus controles, a tres edades del desarrollo.

Clastrum

El claustrum se localiza en el extremo lateral próximo a la amígdala, separadas ambas estructuras por la cápsula externa. Por su proximidad con la amígdala se le seleccionó como estructura de referencia (ver Fig.6). Su extensión anteroposterior es mucho mayor que la de la amígdala, de manera que se le puede localizar en cortes muy anteriores junto con el caudado y el putamen, y desaparece en los mismos cortes posteriores que la amígdala. Para este estudio se tomaron muestras de las porciones del claustrum que coinciden con la amígdala, de manera que a los 12 días se tomaron muestras de los planos A3.5mm al A2.0mm, a los 20 días del A4.7mm al A3.2mm y a los 40 días del A5.3mm al A3.8mm.

Área somática y área dendrítica.-

En el claustrum se observaron células de soma mediano y oval de donde emergen 3 a 4 ramas dendríticas primarias muy ramificadas (ver Fig. 16). De acuerdo al análisis de varianza, la desnutrición ejerce una influencia significativa sobre la extensión del área somática de estas neuronas. También mostró que hay influencia significativa sobre el área somática relacionada con la edad y de la interacción de ambos factores (ver Tabla 9A). También en la extensión del área dendrítica tuvieron influencia significativa el factor nutricional y el factor edad (ver Tabla 9B).

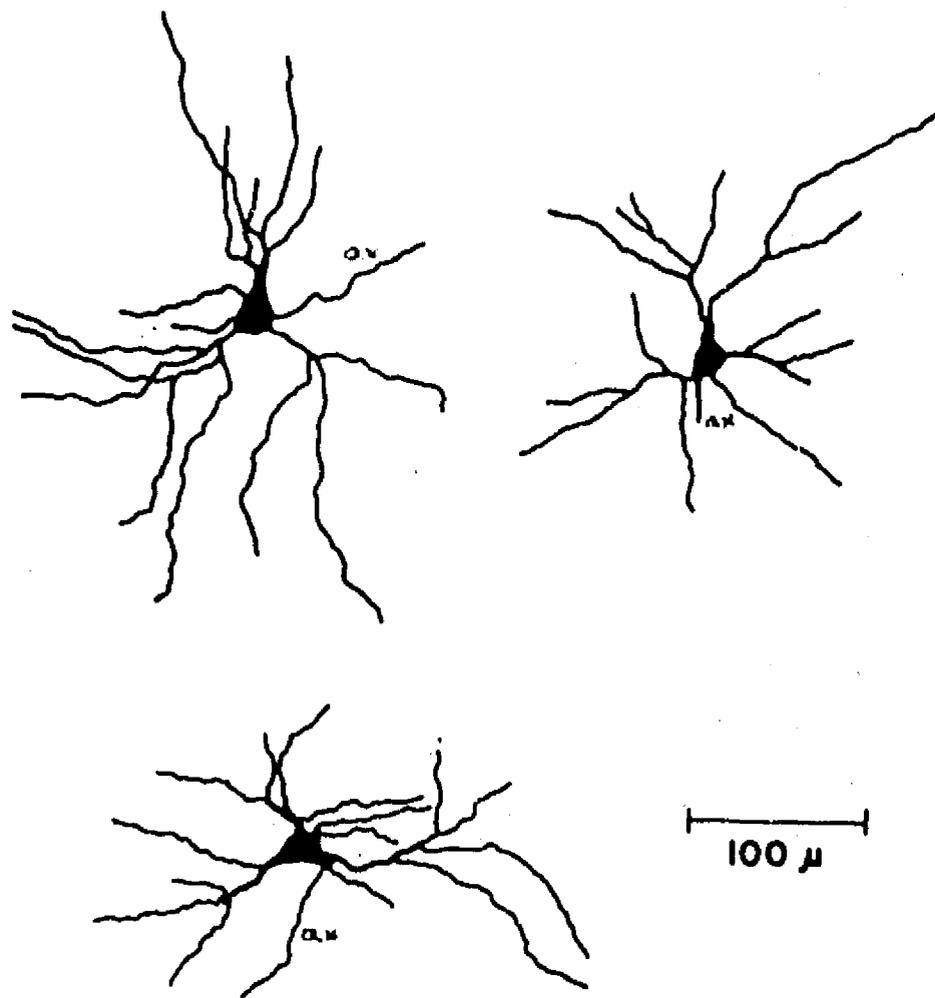


Fig.16.- Neuronas características del claustrum en el cerebro de la rata de 40 días de edad.

Con los valores obtenidos por ambos grupos se observó que en las tres edades los desnutridos tenían menor extensión del área somática que sus controles, aunque fue significativa únicamente la diferencia en el día 20. El área dendrítica fue también de menor extensión para los desnutridos y estos valores sí resultaron significativos para las tres edades (ver Fig.17).

A. VALORES DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL AREA SOMATICA

FACTOR	GR.LIB.	F	p
NUTR	1,144	5.44	<0.02
EDAD	2,144	4.77	<0.01
NUTR. X EDAD	2,144	6.22	<0.003

B. VALORES DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL AREA DENDRITICA

FACTOR	GR.LIB.	F	p
NUTR	1,144	35.28	<0.0001
EDAD	2,144	6.66	<0.002
NUTR. X EDAD	2,144	.735	N.S.

Tabla 9. Resultados obtenidos con un análisis de varianza de 2 factores (NUTR [2] X EDAD [3]). A. Para los valores del área somática y B. para los valores del área dendrítica del claustrum.

En los controles el área somática osciló entre las 260 μ m² y las 280 μ m², aunque a los 20 días el valor alcanzó 345 μ m². Por el contrario en los desnutridos el área somática aumentó su valor en cada una de las tres edades, de 242 μ m² a los 12 días a 294 μ m² a los 40 días. El área dendrítica en los controles mostró un comportamiento similar y aumentó conforme a la edad, de manera que a los 12 días el valor fue de 21 440 μ m² y a los 40 días fue de 26 850 μ m². En los desnutridos el área dendrítica osciló entre las 15 100 μ m² y las 16 000 μ m² a los 12 y 20 días y se observó un aumento

para los 40 días en que alcanzó valores alrededor de las 20 100 μ m² (ver Fig.17).

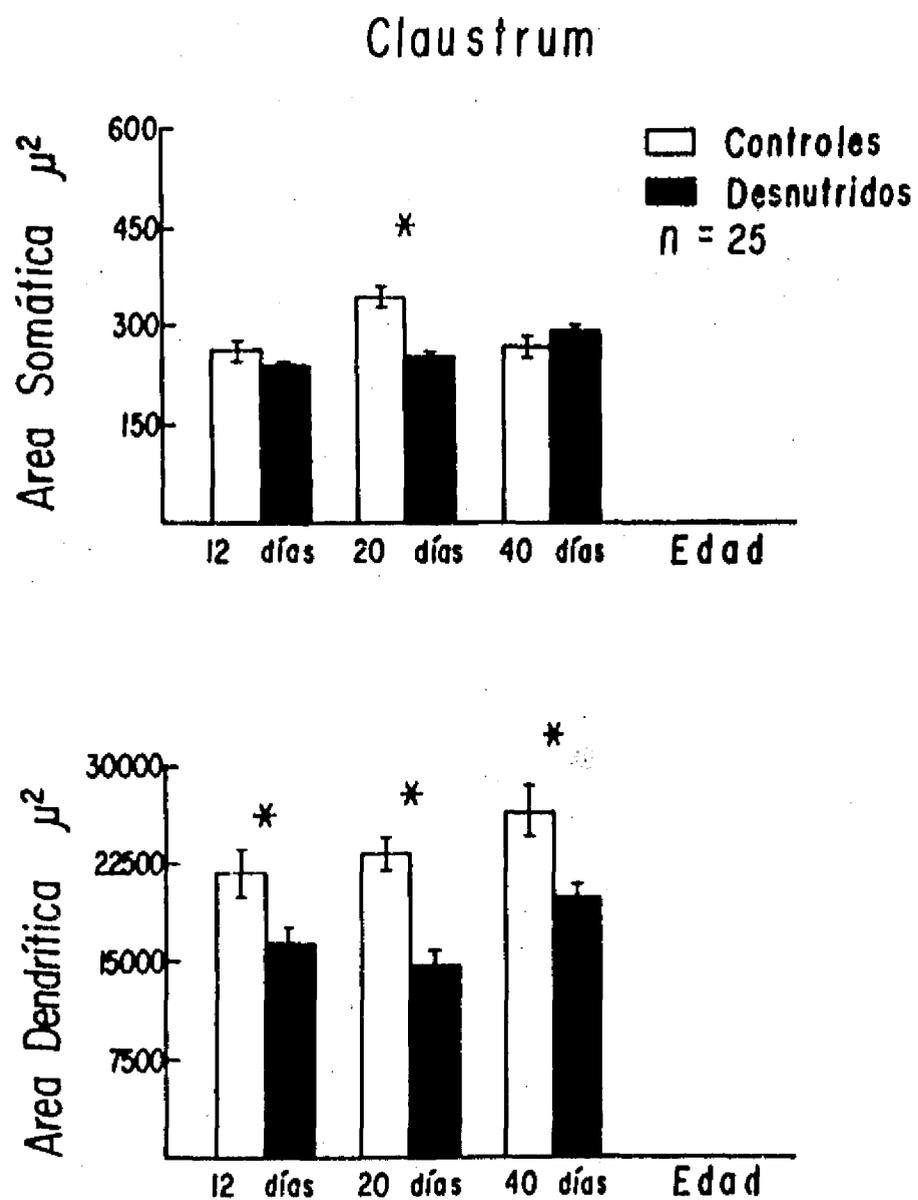


Fig.17.- Area somática y Área dendrítica de neuronas del claustrum de ratas desnutridas y sus controles, en tres edades del desarrollo.

Número de ramas dendríticas.-

Con el análisis de multivarianza se pudo determinar que la desnutrición ejerce una influencia significativa sobre el número de ramas dendríticas de las neuronas del claustrum (Wilks'Lambda = .872; F[7,138] 2.906, $p < 0.007$). Igualmente, la edad resultó ser un factor determinante del número de ramas en el claustrum (Wilks'Lambda = 0.004, F[14, 276] 2.34, $p < 0.004$).

El análisis de varianza de dos factores, indicó que la desnutrición específicamente altera el número de ramas dendríticas periféricas, esto es, de los órdenes cuarto, quinto y sexto (ver Tabla 12A). Por el contrario, por influencia de la edad los efectos más importantes sobre el número de ramas dendríticas se observaron en las ramas primarias, terciarias y de cuarto orden (ver Tabla 12B).

En la comparación que se realizó por edades entre desnutridos y controles y para cada orden dendrítico con la prueba de Newman-Keuls, se observó que los desnutridos tienen menor número de ramas dendríticas en todas las edades y para todos los órdenes. Esta tendencia que es constante resultó únicamente significativa en el día 20 para las ramas de cuarto orden ($p < 0.009$), quinto orden ($p < 0.01$) y totales ($p < 0.02$) y en el día 40 para las ramas de cuarto orden ($p < 0.008$) (ver Fig.18).

A. EFECTOS ASOCIADOS A LA NUTRICION

ORDEN DENDRITICO	F (1,144)	P	CORR. CANONICA
RAMAS 1	2.57	N.S.	0.34
RAMAS 2	0.04	N.S.	0.04
RAMAS 3	1.66	N.S.	0.28
RAMAS 4	14.56	<0.0001	0.82*
RAMAS 5	9.20	<0.003	0.65*
RAMAS 6	7.62	<0.007	0.59*
RAMAS 7	2.01	N.S.	0.30
TOTALES	11.55	<0.001	

B. EFECTOS ASOCIADOS A LA EDAD

ORDEN DENDRITICO	F (2,144)	P	CORR. CANONICA
RAMAS 1	5.71	<0.004	0.64*
RAMAS 2	2.30	N.S.	0.17
RAMAS 3	3.52	<0.03	0.41*
RAMAS 4	4.50	<0.01	0.45*
RAMAS 5	0.92	N.S.	0.08
RAMAS 6	0.49	N.S.	0.12
RAMAS 7	0.32	N.S.	0.15
TOTALES	4.67	<0.01	

Tabla 12. Resultados del análisis de varianza y correlación canónica para los órdenes de ramas dendríticas. El asterisco señala los valores que contribuyen más a las diferencias observadas con el análisis de multivarianza.

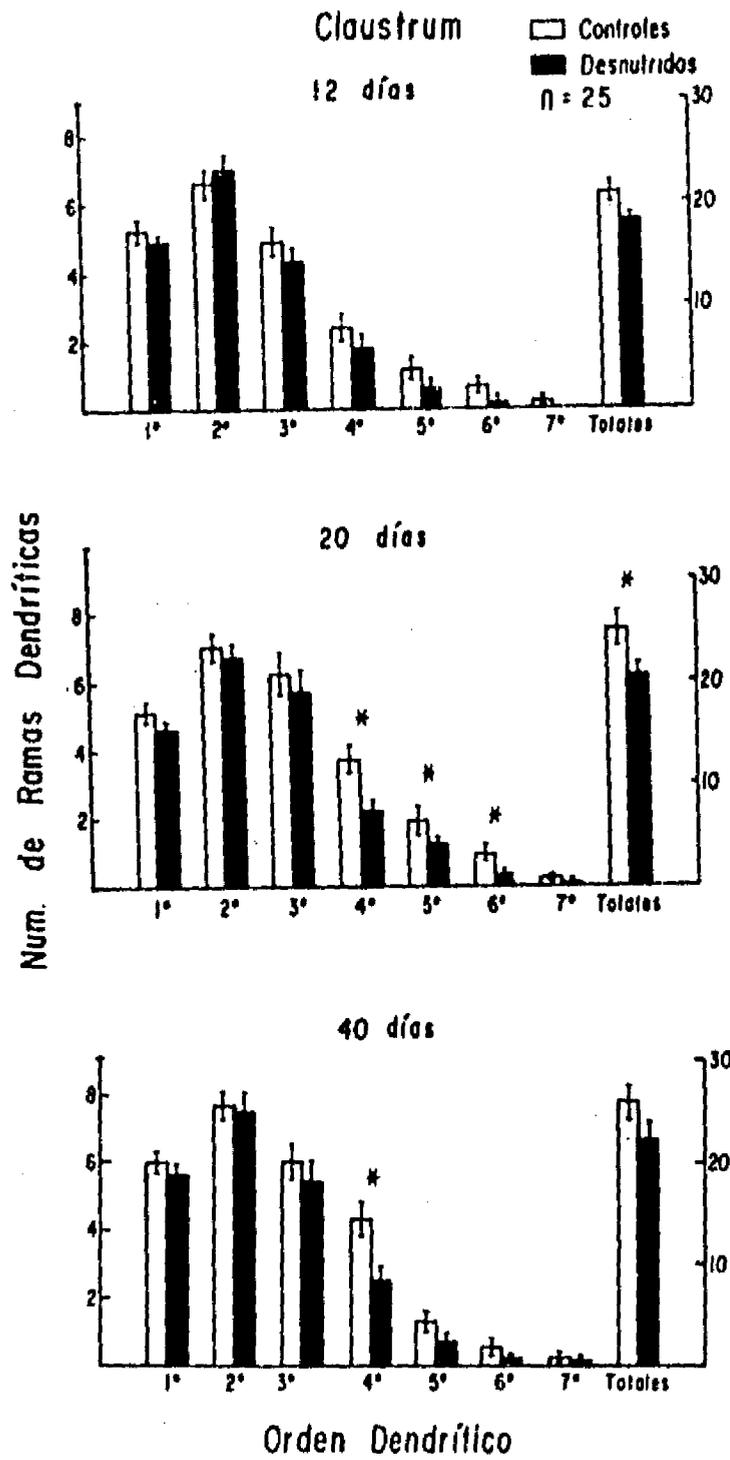


Fig.18.- Número de ramas dendríticas de células del claustrum de ratas desnutridas y sus controles a tres edades del desarrollo. El asterisco marca los puntos en que fueron significativas las diferencias entre ambos grupos.

DISCUSION

Las diferencias obtenidas con respecto al peso corporal muestran que el método de desnutrición empleado en este trabajo provoca consistentemente una baja de peso que oscila entre un 20% y un 25% y que persiste a los 40 días a pesar de la rehabilitación nutricional a la que fueron expuestas del día 24 al 40 de edad. Junto con este parámetro se observó que el pelo de estas crías era ralo y opaco. También se observó de manera informal un retraso en su desarrollo motor y un retraso en la apertura palpebral y en la apertura del meato auditivo. Estos síntomas característicos de la desnutrición confirmaron la efectividad del método empleado.

La proporción del déficit del peso cerebral de las crías desnutridas, por el contrario, fue menos pronunciado, ya que osciló entre el 8% y el 5%. Se ha descrito en trabajos previos a éste que el sistema nervioso sufre un déficit menor al que se observa en el resto del organismo (Dobbing y Sands, 1971; Morgane y col., 1978) y a este fenómeno en inglés se le ha denominado *brain sparing*. Las observaciones indican que cuando se presenta un episodio de desnutrición, a diferencia de otros órganos, el sistema nervioso no muestra una reducción tan intensa de su peso, por lo que se ha planteado que debe haber algún mecanismo metabólico que lo proteja hasta cierto límite de estas deficiencias nutricionales. Por eso la disminución de peso cerebral en los desnutridos se ve amortiguada en relación a la

reducción de su peso corporal.

En trabajos previos se ha descrito una alteración muy similar de peso corporal y peso cerebral en ratas desnutridas durante toda la lactancia, aunque las proporciones varían según el paradigma de desnutrición que se haya empleado. Por ejemplo, utilizando el método de separación de la mitad de la camada durante la lactancia, que es el método empleado en este trabajo, Fuller y Wiggins (1984) describieron a los 30 días de edad un déficit en el peso corporal del 26% y en el peso cerebral del 13%, lo cual es muy similar a lo que se reporta en este trabajo. Utilizando un paradigma de desnutrición que consiste en formar camadas grandes de 18 crías o más, Dobbing y col., (1971) describieron en las ratas desnutridas un déficit de peso corporal del 24% y en el peso cerebral del 10%, a una edad de 30 semanas; y en otro estudio similar la proporción fue del 25.5% y del 10% respectivamente a los 17 días de edad (Griffin y col., 1977). Con otro paradigma que consiste en reducir a la mitad la cantidad de alimento accesible a la hembra lactante, se han descrito también en las crías deficiencias con la misma tendencia aunque más intensas. Barnes y Altman (1973) obtuvieron un decremento del 14% en el peso cerebral a los 20 días, Clos y col., (1977) describieron en el peso corporal a los 35 días un decremento del 42% y en el peso cerebral de un 21%. La misma tendencia se ha observado con la exposición a una dieta hipoproteínica con un contenido del 8% de caseína vs. un 25% en el alimento de los controles. Morgane y col., (1978)

reportaron que el peso corporal de crías desnutridas se reduce en un 40% del peso de los controles a partir del día 5 de edad, y el peso cerebral se reduce en un 25%, aunque se va recuperando progresivamente con la edad hasta alcanzar sólo una diferencia del 5% en la edad adulta.

En relación a los datos que se citan, entre otros, se ha podido constatar que el método de desnutrición empleado en este estudio es consistente para producir desnutrición y concuerda en la intensidad de sus efectos con lo descrito en otros estudios.

Núcleo Basolateral Amigdalino

Los hallazgos presentados con respecto a las neuronas de tipo I del núcleo ABL de la amígdala, indican que éstas son más pequeñas de tamaño en las crías desnutridas neonatalmente que en sus controles. Esto se refleja tanto en el tamaño del soma como en la extensión del árbol dendrítico. El tamaño del soma se mostró especialmente reducido al día 20, en que el déficit era del 26% en relación a los controles, aunque en los otros dos días la proporción fue del 7%-8%. Esta última proporción es equivalente a la reducción que se observa en el peso cerebral, por lo que pudiera ser simplemente una hipotrofia paralela al tamaño reducido del cerebro del desnutrido.

Por el contrario, en la extensión del área dendrítica el déficit se vio más acentuado a los 12 y 20 días, pues en estos días osciló entre un 23% y un 26%. Estas edades corresponden al periodo en que las crías estaban sometidas a la privación de alimento. A esta hipotrofia en el grupo desnutrido se sumó consistentemente un menor número de ramas dendríticas en estas neuronas tipo I y esto se observó en todas las edades. Aunque a los 40 días de edad no se observaron diferencias entre ambos grupos en la extensión del árbol dendrítico, sí perduró la reducción del número de ramas dendríticas en los desnutridos. Resulta entonces evidente, que la desnutrición neonatal altera en particular la ramificación del árbol dendrítico de las neuronas tipo I del núcleo ABL.

Estas neuronas tipo I del núcleo ABL proyectan hacia el núcleo dorsomedial del tálamo y de ahí a la corteza prefrontal, formando un circuito bidireccional, de manera que estas mismas células son receptoras de aferentes provenientes de ambas estructuras. Este circuito lo han descrito diversos grupos entre ellos Lammers (1972); Livingston y Escobar (1971); Llamas y col., (1977), Valverde (1963) y más recientemente McDonald (1987) quien ha confirmado la existencia de este circuito con marcadores fluorescentes. Este circuito que se establece entre el ABL, el tálamo dorsomedial y la corteza orbitofrontal, parece estar involucrado en procesos de aprendizaje y memoria (Cador y col., y 1989; Everitt y col., 1989), específicamente en relación a tareas

espaciales y temporales (Livingston y Escobar, 1971; Sarter y Markowitsch, 1984) y en relación a estímulos olfatorios y gustativos (Bermudez-Rattoni y col., 1986). Este circuito se ha considerado también un componente del circuito límbico, ya que confiere el tono emocional a eventos de aprendizaje (Ferrer y col., 1987; Livingston y Escobar, 1971).

Otra fuente de aferencias al ABL es el complejo ventromedial del tálamo (Cowan y col., 1965; Kaada, 1972 y Lammers, 1972), así como vías colaterales provenientes del lóbulo temporal, de la corteza parietal y occipital (Kaada, 1972). Así mismo, el ABL recibe indirectamente una entrada importante de información olfatoria por vía de la corteza piriforme (Lammers, 1972). De tal manera que, se ha considerado a este núcleo como una zona multimodal y se ha propuesto que el ABL participa elaborando el contenido emocional de las percepciones (Llamas y col., 1977).

El núcleo ABL mantiene también una interacción recíproca muy importante con núcleos del hipotálamo (Cowan y col., 1965; Ottersen y Ben-Ari, 1979) que elaboran las respuestas simpáticas asociadas a los cambios emocionales. Se ha observado que su estimulación eléctrica provoca dilatación pupilar, erección del pelo, aumento de la frecuencia cardíaca y otras respuestas autónomas junto con gruñidos y jadeos (Price 1987) y también una respuesta de orientación (Kaada, 1972), que puede verse seguida por una respuesta de defensa y huida (Ottersen y Ben-Ari, 1979).

De acuerdo a los datos presentados en este trabajo, las alteraciones a nivel dendrítico en el ABL que se observaron en las ratas desnutridas, muestran que el substrato neuronal para la recepción de aferencias al núcleo ABL es deficiente. De manera que, estas neuronas por su árbol dendrítico menos ramificado tienen menor capacidad para captar aferencias de tipo polisensorial, para elaborar experiencias de aprendizaje y memoria, para conferirles un contenido emocional, así como para elaborar respuestas viscerales.

Existen evidencias en la literatura de que las ratas desnutridas tienen un rendimiento deficiente cuando se prueban en paradigmas de aprendizaje. Inicialmente esta imperfección se consideró un reflejo del "retardo mental" en las ratas desnutridas (Cowley y Griesel, 1964). Sin embargo, recientemente se ha planteado que el bajo rendimiento que se observa en el aprendizaje de éstas, se asocia a la exagerada reactividad emocional que presentan al exponerlas a la situación de prueba y no propiamente a una innabilidad para aprender. Levitsky (1975), utilizó un diseño experimental con el que controló el nivel emocional y de motivación en las ratas desnutridas y observó que lograban resolver laberintos con la misma eficiencia que sus controles. Con ello mostró que era la disposición emocional lo que interfería en la ejecución de dichas tareas.

Igualmente se ha observado una respuesta emocional exagerada en otro tipo de registros conductuales en los que esta reacción entorpece su expresión adecuada, tal es el caso de los registros en el campo abierto (Escobar y Salas, 1987; Salas y Cintra, 1979), en las respuestas de aseo (Salas y col., 1991), en la conducta maternal (Salas y Torrero, 1979) y en la resolución de situaciones de conflicto (Duncan y col., 1986; Shibata y col., 1989). Estas deficiencias, entonces, pueden estar relacionadas con las alteraciones del ABL, pues como ya se describió, participa en circuitos funcionales que confieren el tono emocional a las percepciones y vivencias del individuo.

En las ratas desnutridas se han descrito también respuestas simpáticas exageradas ante situaciones novedosas. Se ha descrito mayor secreción de la cantidad de corticoesteroides en ratas desnutridas (Adlard y Smart, 1972) y mayor depósito de bolos fecales (Escobar y Salas, 1987).

Pudiera suponerse entonces, que la hipertrofia del árbol dendrítico del ABL refleje en parte una deficiencia de esta estructura para interactuar con otros núcleos con los que forma circuitos funcionales, resultando de ello un tono emocional alterado en situaciones de aprendizaje y en el establecimiento de huellas de memoria, así como una reacción emocional exagerada ante eventos de su medio ambiente.

Núcleo Central Amigoalino

En las neuronas medianas del núcleo central se observó una reducción significativa del área del soma asociado a la desnutrición. Este déficit fue aproximadamente del 35% a los 12 y 20 días de edad, sin embargo, a los 40 días estas diferencias desaparecieron probablemente por algún proceso de ajuste en los controles en los que bajaron los valores a cantidades similares a los desnutridos.

En el área dendrítica se dió un fenómeno similar al anterior. A los 12 días el déficit en el área dendrítica de los desnutridos fue del 45% y esta diferencia fue disminuyendo hasta que a los 40 días los valores de ambos grupos fueron iguales.

Los datos descritos muestran que el desarrollo de este núcleo en el desnutrido sufre inicialmente refleja un retraso en estos procesos, sin embargo a los 40 días los desnutridos han alcanzado valores similares a sus controles, de manera que a largo plazo las neuronas descritas llegan a tener igual tamaño y extensión en ambos grupos experimentales.

En el conteo de ramas dendríticas las diferencias entre desnutridos y controles perduraron y no se encontró una compensación de efectos a los 40 días. En todas las edades el número de ramas dendríticas en las neuronas del ACE fue menor que

en sus controles. También se pudo observar que el crecimiento del árbol dendrítico en este núcleo comprende una etapa postnatal, ya que tanto en el grupo control como en el desnutrido se pudo apreciar un aumento en el número de ramas dendríticas asociado a la edad. A los 12 días apenas se llegaron a encontrar ramas de 5o orden y el total de ramas fue en promedio de 15.4 en los controles y de 13 en los desnutridos, a los 20 días de edad ya se observaron ramas de 6o orden y el total de ramas aumentó a 23.2 en los controles y 20.3 en los desnutridos. Finalmente, a los 40 días este valor fue de 26.12 y 21.9 respectivamente y se observaron ramas de 7o orden. Este proceso de crecimiento dendrítico parece alterarse significativamente por la desnutrición neonatal. De manera que puede estar reducida la capacidad de estas neuronas para captar información aferente necesaria para la regulación de sus funciones.

El ACE recibe aferencias del área preóptica del hipotálamo (Cowan y col., 1965), aferencias multimodales del núcleo parafascicular del tálamo (Ottersen y Ben Ari, 1979 y Schwaber y col., 1988) y aferencias con información gustativa, cardiovascular y visceral del núcleo del tracto solitario y del núcleo parabraquial del tallo cerebral (De Olmos, 1972 y Schwaber y col., 1988). El ACE es también blanco de colaterales originadas en diversos núcleos de relevo sensorial del tallo cerebral, de una proyección cortical muy importante proveniente de la corteza medial frontal y de áreas prelímbicas (Ottersen, 1982; Price,

1987). Esta entrada sensorial proveniente de sitios anatómicos distintos parece conceder al ACE la posibilidad de integrar información sensorial no procesada con información ya procesada por estructuras superiores (Ottersen, 1982). La información procesada aparentemente ha recibido un tono afectivo. De tal manera, que se ha propuesto que el ACE elabora respuestas emocionales y viscerales a partir de este tipo de aferencias. Estas respuestas están dirigidas a regular la adaptación del individuo ante situaciones aversivas. De tal manera que, el ACE participa en la elaboración de reacciones motoras de atención, defensa, huida, evitación y miedo (Dunn y Everitt, 1988) y tiene un rol muy importante en la elaboración de respuestas al stress (Henke, 1983; Liang y Lee, 1988). Asociado a las respuestas motoras que se elaboran para estas conductas, el ACE participa en la producción de las respuestas viscerales que se presentan asociadas a ellas (Henke, 1983; McDonald, 1982; Schwaber y col., 1988).

Las respuestas del ACE se proyectan por diversas vías a dos sistemas principales, hacia los ganglios basales para las respuestas motoras y hacia los núcleos del tallo cerebral para la elaboración de respuestas viscerales. Las eferencias más importantes del ACE son hacia el núcleo propio de la estria terminal, de donde surgen fibras al hipotálamo lateral, al núcleo subtalámico y a la sustancia nigra (DeOlmos, 1972; Gustafson y Greengard, 1990; Valverde, 1963; Watson y col., 1983). También se

ha descrito un haz denso que proyecta hacia el núcleo parabraquial y al núcleo del tracto solitario en el tallo cerebral, lo cual sugiere la relevancia del ACE en la regulación de respuestas autonómicas (Schwaber y col., 1988).

Este tipo de respuestas, como ya se mencionó, son las que se observan alteradas en las ratas desnutridas ya que en éstas son características las respuestas emocionales intensas, que se expresan como una exageración de movimiento e impulsividad, así como en una disminución de la respuesta exploratoria. Estas expresiones conductuales también se acompañan de mayor depósito de bolos fecales (Escobar y Salas, 1987) y de mayor secreción de corticoesteroides (Adlard y Smart, 1972; Wiener y col., 1983). Estas respuestas que como ya se mencionaba en la introducción perduran en el desnutrido a pesar de la rehabilitación nutricional y de la estimulación temprana, pueden tener en este núcleo amigdalino un substrato morfológico muy importante.

En la rata desnutrida neonatalmente el decremento en el número de ramas dendríticas del ACE es aproximadamente del 18%, lo que nos lleva a suponer que este núcleo funciona con una deficiencia de información principalmente de tipo sensorial ya sea procesada o sin procesar. Al ser deficiente la información procedente de diversas zonas que llega al ACE, esta estructura resultaría incapaz de elaborar una respuesta adecuada a la demanda ambiental.

Núcleo Medial Amigdalino

En el núcleo medial de la amígdala de las ratas desnutridas se encontraron deficiencias importantes en el área somática y dendrítica a los 12 y 20 días de edad. Estas áreas estaban reducidas en una proporción del 22% al 28% en relación a sus controles, sin embargo, se minimizaron y desaparecieron estas diferencias para los 40 días de edad. Resulta interesante que el árbol dendrítico en las ratas control modificó muy poco su longitud en las tres edades, lo que lleva a pensar que es antes de los primeros 12 días que se da este crecimiento y aparentemente este proceso de desarrollo se lentifica con la desnutrición. Este crecimiento neuronal que se lentifica inicialmente por la desnutrición, mostró posteriormente una compensación, ya que a los 40 días había alcanzado valores casi iguales a los controles.

En el número de ramas dendríticas se observaron cambios leves asociados a la desnutrición, así como asociados a la edad. Únicamente a los 20 días se observó menor número de ramas primarias y secundarias en los sujetos desnutridos, así como una reducción significativa en el número total de ramas dendríticas, y esta diferencia ya no se observó a los 40 días de edad. Esto nos indica que en general se modifica muy poco el número de ramas dendríticas por la desnutrición. De tal manera que no hubo diferencias significativas de este parámetro asociadas a la desnutrición.

Este núcleo amigdalino es de formación ontogenética temprana y probablemente su sinaptogénesis también pase por un período de ajuste temprano, ya que la desnutrición no alcanzó a modificarla.

El AM, al igual que el núcleo cortical y la corteza piriforme, recibe aferencias directas del bulbo olfatorio y del bulbo accesorio, por lo que forma parte de la corteza olfatoria primaria (Carpenter, 1978; Lumia y col., 1987). Del AM surgen haces hacia la estria terminal que distribuye esta información hacia los núcleos preóptico y ventromedial del hipotálamo (Chateau y Aron, 1988; Nishizuka y Arai, 1981; Watson y col., 1983). Estos núcleos regulan principalmente respuestas sexuales (Chateau y Aron, 1988; Kostarczyc, 1986; MacLusky y col., 1985) y de alimentación (Kozik y Szczech, 1976).

El AM es un núcleo sexualmente dimórfico (Meaney y McEwen, 1986; Nishizuka y Arai, 1981) y es una zona de concentración de esteroides sexuales. Se ha descrito alta concentración de receptores a andrógenos en el macho y se ha constatado que junto con el núcleo ventromedial hipotálmico genera y regula la conducta copulatoria (Lumia y col., 1987). Por otro lado, en la hembra regula la respuesta de lordosis (Chateau y Aron, 1988; Cowan y col., 1965) y su estimulación provoca ovulación. De tal manera, se ha propuesto que este núcleo procesa e integra información sensorial interna y externa, en especial la olfatoria, para garantizar una interacción sexual adecuada de acuerdo con el

contexto social del individuo (Kostarczyc, 1986).

Se ha observado que esta región es totalmente dependiente de la información olfatoria, al grado que la remoción temprana de los bulbos olfatorios provoca degeneración de esta zona (Cowan y col., 1965) que se acompaña de alteraciones en la respuesta de reproducción. Es importante mencionar que este núcleo junto con otras zonas cerebrales pasa por un periodo crítico de diferenciación sexual durante los primeros 4 días de edad postnatal. De manera que en esa etapa del desarrollo se determina si esta estructura participará en funciones de hembra o de macho. De acuerdo a esta diferenciación se determina la sensibilidad de sus receptores a estrógenos, y de esto parte la elaboración de respuestas dirigidas a satisfacer un rol sexual (Meaney y McEwen, 1986) como es el juego social, en los machos la dominancia (Luiten y col., 1985), defensa y huida (Kemble y col., 1984). En las hembras se ha descrito que el AM participa en la elaboración de la conducta maternal, inhibiéndola en las hembras nulíparas y promoviéndola en el periodo postparto (Fleming y col., 1983).

En la rata desnutrida se han descrito alteraciones en la secreción de corticoesteroides (Smart y Adlard, 1974) y en la producción de hormonas tiroideas (Blackmore, 1973), sin embargo, no parecen existir alteraciones importantes en la secreción de hormonas sexuales. Hemos observado un incremento en el juego social (datos sin publicar) que es una conducta relacionada con la

diferenciación sexual (Meaney y McEwen, 1986). No se tiene constancia de que este incremento este asociado a una alteración hormonal, pero si se ha considerado que este tipo de juego que se observa más rudo y violento en ratas desnutridas, pueda tener como causa la hiperactividad y la reactividad emocional exagerada que las caracteriza.

Por el contrario, se han descrito alteraciones en la conducta maternal de hembras desnutridas durante la lactancia (Salas y Iorrero, 1979 y Salas y col., 1984). Estas se caracterizan por tener nidos mal contruidos, muestran mayor latencia para recoger a sus crías y sobre todo mayor irritabilidad y agresividad. Si estas alteraciones en las hembras desnutridas fueran resultado del retraso en el desarrollo de AM durante el periodo critico de diferenciación, entonces debieran observarse también alteraciones en la respuesta de lordosis o bien en la fertilidad de hembras sometidas a desnutrición neonatal, lo cual hasta el momento no se ha reportado. Por el contrario, podemos suponer que estos cambios de conducta pudieran asociarse a la respuesta emocional exagerada característica de las ratas desnutridas, ya que en estas hembras se observa mayor agresividad y también mayor predisposición por abandonar o descuidar el nido.

El AM participa junto con el hipotálamo en la regulación de respuestas alimentarias. En las ratas desnutridas no parece estar alterada esta respuesta, ya que cuando se les permite libre acceso

al alimento, se alimentan en cantidades normales y proporcionales a su peso corporal. A su vez, Levitsky (1975) utilizó el alimento como consecuencia reforzante en pruebas de aprendizaje, y observó que las ratas desnutridas perinatalmente muestran la misma motivación hacia el alimento que sus controles. De manera que este circuito funcional no parece alterarse.

Aparentemente, el retraso que sufren las neuronas del AM en su crecimiento, no repercute posteriormente en su funcionamiento, pues su capacidad de interactuar con otras zonas cerebrales a través de su árbol dendrítico no se modifica y esta falta de cambios morfológicos importantes en esta estructura se muestra en paralelo con las expresiones conductuales de la rata desnutrida.

Clastrum

El claustrum se incluyó en este trabajo como una estructura de referencia, ya que por su cercanía anatómica con la amígdala, puede ser un indicador de que los efectos de la desnutrición son específicos de una estructura o son regionales. Sorprendentemente se observaron efectos muy definidos provocados por la desnutrición sobre la morfología de esta estructura. En el claustrum los efectos de la desnutrición se observaron en todos los parámetros que se midieron, y en el número de ramas dendríticas no se observó reversión de efectos asociada a la edad.

El decremento en el área somática fue discreto y no se observó a los 40 días. En cambio, el decremento en el área dendrítica fue muy notorio y prevaleció aún a los 40 días de edad. Esta reducción en las ratas desnutridas fue del 24% a los 12 días, del 36% a los 20 días y de 26% a los 40 días, lo cual es muy significativo, ya que el tamaño del cerebro mostró una reducción que osciló entre el 5% y el 8%.

El número de ramas dendríticas de las ratas desnutridas también se mantuvo reducido significativamente en las tres edades y esta tendencia pudo observarse en todos los órdenes dendríticos.

Los conocimientos que se encuentran en la literatura sobre la interacción del claustrum con otras zonas cerebrales se han obtenido principalmente de preparaciones en gato y en diversos roedores, por lo que se reportarán éstos considerando que en la rata siga una organización similar. El claustrum es una estructura polisensorial, que establece contactos sinápticos recíprocos con toda la corteza cerebral (Sloniewski y col., 1986; Gorbachevskaja y Lebedeva, 1981) y en especial con las cortezas visual primaria (Carey y Neal, 1985 y 1986; Druga, 1989; Shameem y col., 1984), auditiva primaria (Hinova-Palova y col., 1988; Neal y col., 1986) y motora (Macchi y col., 1981; Sloniewski y col., 1986). También establece contactos con el núcleo caudado (Arikuni y Kubota, 1985), con los núcleos posteriores del tálamo (Sloniewski y col., 1985), el núcleo geniculado lateral y el núcleo lateral del tálamo

(Levay y Sherk, 1981). A su vez, manda proyecciones al colículo superior (Salerno y col., 1989) con el cual participa en la coordinación oculomotora. Con el circuito límbico mantiene también una relación a través de la corteza prepiriforme, con el núcleo entorrinal (Markowitsch y col., 1984) y con el complejo ABL de la amígdala (Arikuri y Kubota, 1985; Royce y Laine, 1984). Se ha descrito que las relaciones del claustrum con toda la corteza cerebral son principalmente de tipo ipsilateral (Levay y Sherk, 1981; Minciacchi y col., 1985) y que se ordenan topográficamente de acuerdo a la localización de los sitios de contacto dentro de los hemisferios cerebrales (Guldin y col., 1986; Sloniewski y Pilgrim, 1984) (ver Fig. 18).

Se le atribuyen al claustrum funciones de coordinación y organización de patrones motores (Crescimanno y col., 1989; Salerno y col., 1984) y en especial parece regular la coordinación motora visual, como es el ajuste del movimiento de los ojos (Kuchiiwa y col., 1984; Salerno y col., 1989), la detección de objetos en movimiento (Boyapati y Henry, 1985) y la constricción de la pupila. También se ha sugerido que el claustrum está involucrado como relevo en la transmisión sensorial de diversos receptores a la corteza somatosensorial (Morys y col., 1988). Al claustrum se le atribuyen también funciones de integración cortico-cortical interhemisférica (Minciacchi y col., 1985; Witter y col., 1988), en especial conectando zonas homólogas de la corteza cerebral. Así mismo se le atribuye cierta influencia en el

procesamiento y formación de huellas de memoria (Witter y col., 1988).

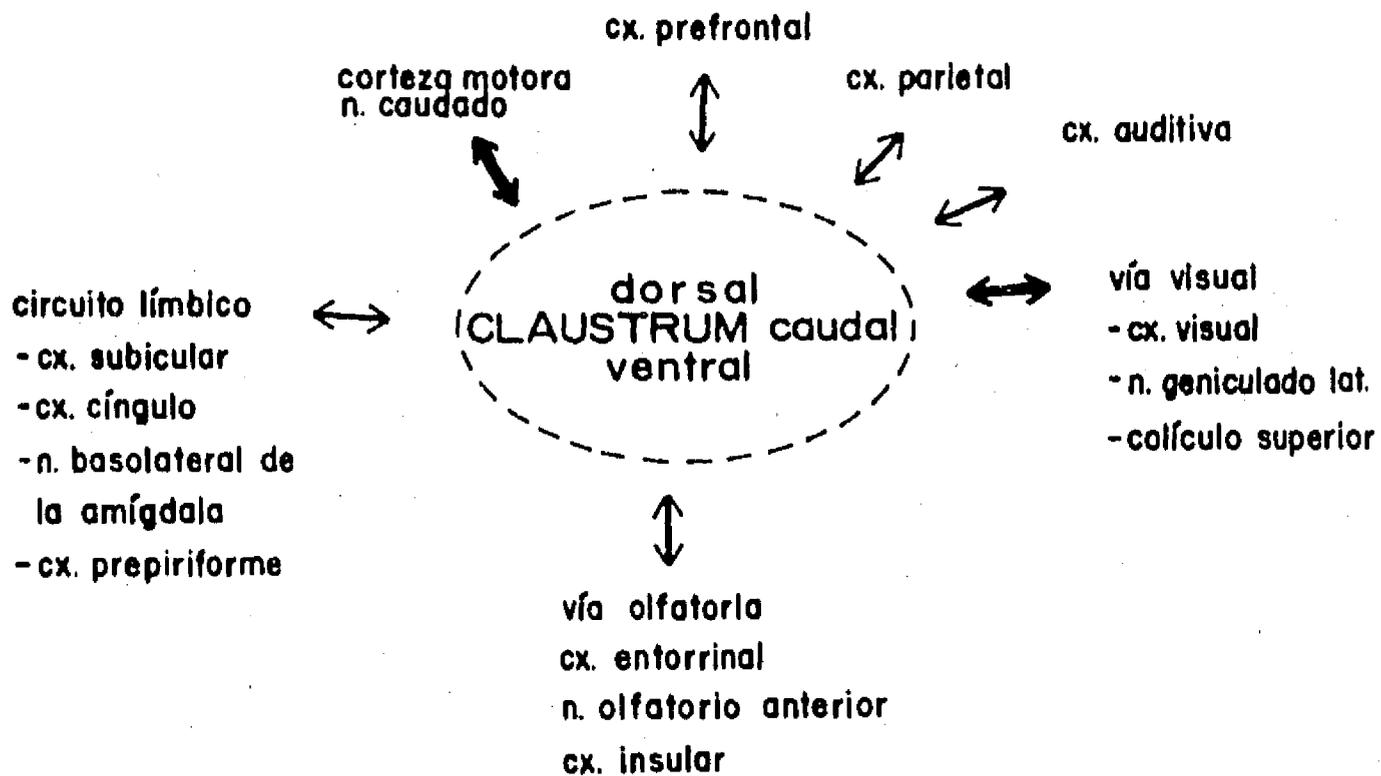


Fig.18.- Aferencias y eferencias principales del claustrum.

De acuerdo a la información recabada, el claustrum es una estructura de relevo polisensorial que se relaciona con múltiples estructuras ejerciendo funciones de integración y coordinación sensorial y motora. Resulta interesante que esta estructura se

altere de manera tan importante por la desnutrición neonatal, ya que precisamente en regiones cerebrales que ejercen este tipo de funciones son en las que se observa un deterioro importante por la desnutrición. Un ejemplo son los trabajos de Salas y col., (1986) en los que se muestra que precisamente los núcleos talámicos polisensoriales sufren alteraciones en su árbol dendrítico por la desnutrición perinatal, en contraste con los núcleos específicos que no se modifican importantemente. Así mismo, en este trabajo se observó que los núcleos polisensoriales de la amígdala son los que muestran alteraciones más acentuadas por la desnutrición en relación con los núcleos específicos.

La zona del claustrum de donde se tomaron las muestras es la porción medial y caudal, ya que la porción frontal, al no coincidir con la amígdala no se consideró en este trabajo. En roedores se ha descrito que esta zona del claustrum establece contactos sinápticos ipsilaterales y recíprocos con la corteza occipital (Druga, 1989) y el área auditiva primaria (Hinova-Falova y col., 1988; Neal y col., 1986). Por lo tanto, si el número de ramas dendríticas es deficiente en las neuronas que componen esta región, pudiera plantearse que la entrada aferente a esta zona es deficiente o por lo menos fue deficiente durante un período crítico de ajuste funcional de este circuito. Trabajos previos han descrito deficiencias importantes en la corteza occipital de la rata desnutrida perinatalmente. Entre ellos, Salas y col., (1974) observaron que a los 7 y 15 días postnatales los cerebros de ratas

desnutridas mostraban menor densidad y menor grosor del árbol dendrítico en las células piramidales de la capa V. Estos hallazgos fueron confirmados más adelante por Dyson y Jones (1976) en crías de 20 días de edad y desnutridas pre y postnatalmente. Así mismo, West y Kemper (1976) describieron menor densidad de las espinas dendríticas en las células piramidales de la capa III de esta corteza occipital. Recientemente, Díaz-Cintra y col., (1990) han observado efectos similares en ambas capas de la corteza aunque más intensas las alteraciones de la capa V. De tal manera, las neuronas de proyección de la capa V, que han de llegar entre otras a la región caudal del claustrum, son menos complejas en las ratas desnutridas que en ratas control. Entonces, las aferencias del área visual que llegan al claustrum caudal pudieran ser menos complejas y por lo tanto pudieran promover un desarrollo dendrítico reducido en este grupo neuronal.

Estas deficiencias morfológicas descritas pudieran ser en parte responsables de algunas de las deficiencias conductuales que se han descrito en ratas desnutridas, en especial asociadas a la coordinación motora y visuomotora.

Se sabe que en general el desarrollo motor de la rata desnutrida es más lento que en ratas control (Altman y col., 1971); también es ya muy sabido que en ratas desnutridas se observan deficiencias para frenar movimientos, de manera que sus movimientos reflejan una hipercinencia (Randt y Derby, 1973; Wiener

y col., 1983). También se ha descrito poca habilidad para organizar patrones motores complejos (Altman y col., 1971). En registros de la conducta de aseo Salas y col., (1991) describieron recientemente que precisamente los patrones motores complejos que constituyen esta conducta son los que se modifican en las ratas desnutridas, en contraste con los patrones motores más simples. Esto ha dado pie a que se considere a la rata desnutrida como un animal hiperactivo y con poca capacidad para prestar atención selectiva, ya que se muestra hipermóvil, sobre todo que muchas veces los movimientos son sin dirección y poco exitosos.

Así mismo en pruebas conductuales en las que se requiere una coordinación visuomotora se observa menor rendimiento en las ratas desnutridas que en sus controles. Tal es el caso del laberinto de Hebb-Williams en el que las ratas desnutridas cometen más errores, probablemente por la dificultad de utilizar las claves visuales (Randt y Derby, 1973). Esto último se ha podido confirmar con pruebas de discriminación visual y de memorización visuoespacial, en las que las ratas desnutridas muestran un rendimiento muy deficiente (Goodlett y col., 1986; Wiener y col., 1983).

CONCLUSIONES GENERALES

La desnutrición neonatal provoca en la rata una reducción en el tamaño corporal y cerebral. Cuando la desnutrición se prolonga toda la lactancia, la reducción en el peso corporal perdura aunque posteriormente a estas ratas se les rehabilite nutricionalmente. La reducción en el peso cerebral es en proporción menos intensa y también perdura a pesar de una rehabilitación nutricional. Con el paradigma de desnutrición empleado para este trabajo, se observaron alteraciones en el crecimiento corporal y cerebral muy similares a las que se han reportado previamente en la literatura.

En los núcleos amigdalinos ABL, ACE y AM, se observó un decremento significativo en el área somática y dendrítica de sus células nerviosas, pero a los 40 días estaba muy amortiguada o había desaparecido la diferencia. Por el contrario, en el número de ramas dendríticas estas diferencias entre desnutridos y controles continuaron aún a los 40 días. En especial se observaron estos efectos en las neuronas del ABL y ACE.

En la ontogenia de la amígdala el ABL y el ACE son de formación tardía, ya que su proliferación celular se inicia 2 días después que en el AM. Según Kozik y Szczech (1976), también la maduración del árbol dendrítico sigue un patrón tardío en relación al AM. Aparentemente en el AM este proceso comprende desde unos días antes del nacimiento hasta el día 17 postnatal, mientras que

en el ABL y ACE este proceso se inicia después del nacimiento y se prolonga hasta el día 40 postnatal. Esto nos lleva a considerar que estos dos núcleos pudieran ser más susceptibles a los efectos de la desnutrición neonatal, ya que ésta comprende toda la etapa crítica en el crecimiento del árbol dendrítico de estos núcleos.

Estos dos núcleos amigdalinos son sitios de relevo polisensorial inespecíficos y están involucrados con circuitos funcionales, que le confieren el tono emocional a las percepciones y que elaboran respuestas emocionales tanto motoras como viscerales. A diferencia de ellos, el AM participa en funciones sensoriales específicas, ya que es sitio de relevo primario de la información olfatoria y a partir de ella participa en la regulación de respuestas hormonales, sexuales y de alimentación.

De acuerdo con diversos trabajos (Math y Davrainville, 1980; Salas y col., 1986), la maduración de zonas cerebrales que constituyen mecanismos complejos de modulación polisensorial, comprende un periodo tardío en el desarrollo cerebral. Este sería el caso para el ABL y el ACE, así como para el claustrum, que también es una estructura polisensorial. Este periodo tardío de desarrollo dendrítico coincidió con la fase de desnutrición neonatal. De tal manera, la falta de nutrientes pudo ser un mecanismo que alterara el metabolismo neuronal y con ello, el crecimiento dendrítico, la sinaptogénesis y el ajuste funcional, ya que todos estos procesos son estrategias tardías en el

desarrollo cerebral.

Como se mencionó en la introducción, se ha podido constatar que el metabolismo de la serotonina se altera por la desnutrición. Esto provoca que el nivel de serotonina cerebral esté exageradamente aumentado (Hernández y col., 1989). Durante la ontogenia cerebral este neurotransmisor ejerce una influencia muy importante sobre el crecimiento del árbol dendrítico de grupos neuronales cercanos a zonas de alta concentración de serotonina, ya que inhibe a los conos de crecimiento en la neurona diferenciada y detiene la elongación de las neuritas (Haydon y col., 1987). Así, en la rata desnutrida el exceso de serotonina puede obstaculizar el crecimiento dendrítico de algunos grupos neuronales.

En el núcleo ABL se han descrito neuronas que contienen GABA y que proyectan hacia otros núcleos amigdalinos, entre ellos el ACE, ejerciendo influencia inhibitoria sobre ellos (Nitecka y Ben-Ari, 1987). También se ha planteado la posibilidad de que las neuronas que proyectan a la corteza prefrontal contengan acetilcolina, pues se ha medido alta concentración de acetilcolinesterasa en esta parte de la corteza prefrontal (Llamas y col., 1977). Asimismo, se ha visto que la inyección de noradrenalina directamente al ABL, altera respuestas alimentarias y de aversión a alimentos por enfermedad (Borsini y Rolls, 1984). Por el contrario, la inyección de serotonina a esta zona, no ha

mostrado influir en algún patrón conductual.

El núcleo ACE es una zona a la que llegan proyecciones de muchas zonas del SN, en este núcleo se han descrito receptores a somatostatina, neurotensina, sustancia P, encefalinas y el polipeptido intestinal vasoactivo (Cassell y Gray, 1989; Gustafson y Greengard, 1990; Mc Donald, 1982; Moga y col., 1989). También se han descrito fibras GABAérgicas que proyectan del ACE hacia ABL y que parecen participar en la modulación de respuestas afectivas (McDonald, 1982; Nitecka y Ben-Ari, 1987). Finalmente, se ha descrito en este sitio un exceso en la concentración de serotonina y noradrenalina asociadas a la exposición de ratas a situaciones de conflicto (Sakurai-Yamashita y col., 1989). Por la presencia de serotonina en este núcleo, se pudiera suponer que un exceso de este neurotransmisor durante el desarrollo pudiera provocar deficiencias en el desarrollo del neuropilo de las neuronas de esta zona.

La privación parcial de estímulos sensoriales que sufren las ratas desnutridas durante el desarrollo, puede limitar también la maduración de estas zonas, así como su riqueza dendrítica para interactuar con otras zonas cerebrales. Al respecto se sabe que la experiencia sensorial temprana ejerce influencia trascendental en el ajuste de contactos sinápticos y funcionales (MacDonald, 1985; Scherrer y Fourment, 1964; Waite y Taylor, 1978). De manera que, el ingreso limitado o deficiente de estímulos sensoriales en esta

fase del crecimiento neuronal, altera irreversiblemente el desarrollo del árbol dendrítico, volviéndolo menos eficiente para captar y procesar información. Así, en la rata desnutrida la privación sensorial, resultante del desarrollo tardío de las vías sensoriales y motoras, pudiera ser causante secundario de las deficiencias descritas para los núcleos polisensoriales, ABL, ACE y claustrum.

En la literatura existe un sinnúmero de publicaciones enfocadas a describir cambios morfológicos en diversas zonas cerebrales asociados a la desnutrición. Sin embargo, no parece existir una descripción de este tipo para la amígdala y el claustrum. Actualmente se sabe, que en la amígdala de la rata desnutrida hay una capacidad deficiente para adquirir patrones de actividad eléctrica del tipo del "kindling". Este procedimiento experimental consiste en aplicar repetidamente estímulos eléctricos de bajo voltaje a la amígdala, con lo cual esta estructura desarrolla descargas eléctricas del tipo de la epilepsia. Morgane y col., (1978) reportaron que animales desnutridos, estimulados en la amígdala tardaban más días en adquirir este tipo de patrones y que su umbral de estimulación también requería de mayor voltaje. Con este trabajo se ha sugerido que a consecuencia de la desnutrición el sustrato neuronal de la amígdala es deficiente y por ello se reduce su capacidad para adquirir nuevos patrones de actividad eléctrica. Desde ese punto de vista, entonces, se ha postulado que la amígdala del desnutrido

es una estructura deficiente en su capacidad de aprendizaje.

Por otro lado, estos datos se contraponen con otra serie de estudios (Bronzino y col., 1986; Taber y col., 1980) que observaron en ratas desnutridas mayor susceptibilidad para adquirir actividad epiléptica. En estos estudios la estimulación de bajo voltaje se realizó en el hipocampo y efectivamente, las ratas desnutridas requirieron de menor número de estimulaciones para desarrollar postdescargas similares a la epilepsia.

Como se ha estado mencionando, a la amígdala converge información de todas las modalidades sensoriales, proveniente de núcleos talámicos, así como de la corteza cerebral. La amígdala recibe también información resultante de experiencias complejas provenientes de áreas de asociación y de relevos del sistema límbico; y recibe información visceral proveniente del hipotálamo y núcleos del tallo cerebral. A partir de esta información, participa, entonces, en la integración de experiencias afectivas y participa en la elaboración de respuestas motoras y viscerales que expresen las respuestas emocionales (ver Fig.19).

De tal manera, una deficiencia funcional en la amígdala puede tener como consecuencia una alteración en la integración del tono afectivo, de lo cual pudieran resultar respuestas emocionales inadecuadas o exageradas por parte del individuo. Este fenómeno pudiera fundamentar en parte la respuesta emocional exagerada que

se manifiesta en la rata desnutrida, aunque tendrían que explorarse otras estructuras que forman parte del circuito límbico involucrado en la regulación de estas respuestas.

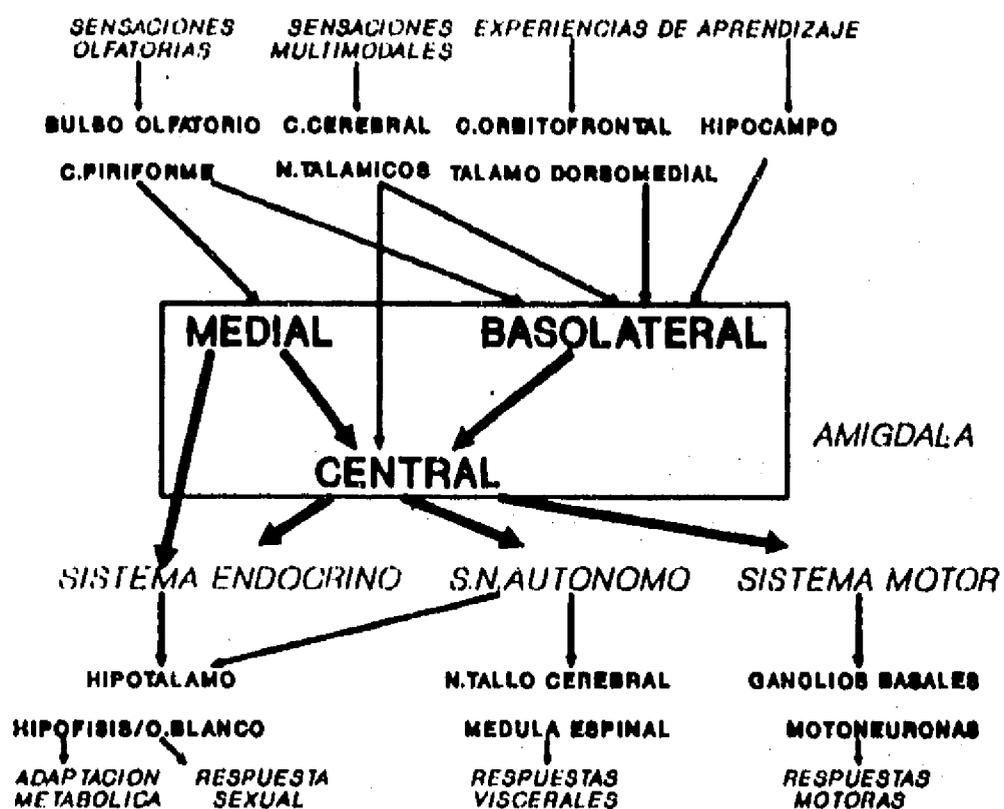


Fig. 19.- Representación esquemática de las aferencias principales a la amígdala y del flujo de información para la elaboración de respuestas. La llegada de información olfatoria a la amígdala se da principalmente por el núcleo medial, mientras que la información de otras modalidades llega por el ABL y el ACE. Así mismo puede observarse que la vía principal de salida para las respuestas emocionales es por el ACE, mientras que el AM está involucrado con la regulación de respuestas hormonales de apareamiento y de alimentación.

Muchos patrones conductuales que se han de expresar en la rata adulta, dependen de la experiencia temprana, ya que en ese periodo se modula la interacción de diversas estructuras cerebrales y se determina su eficacia funcional. En este periodo crítico que se extiende hasta el día 23 postnatal, la desnutrición puede alterar el metabolismo y por lo tanto el crecimiento cerebral; y también, puede entorpecer la interacción que establezca el individuo con su entorno. De manera que, a consecuencia de la desnutrición la expresión de algunos patrones conductuales queda permanentemente alterada. Los cambios observados en este trabajo pudieran ser en parte resultado de este fenómeno nutricional, aunque tendrán que complementarse con estudios morfológicos de otras zonas del circuito límbico, para determinar si los cambios observados en la amígdala son generalizados a otras zonas de este circuito. Este conocimiento ayudará a comprender mejor el mecanismo que produce la respuesta emocional exagerada. También, tendrán que explorarse otros núcleos específicos y polisensoriales, para confirmar si la desnutrición efectivamente afecta en menor intensidad a zonas específicas de relevo sensorial y altera selectivamente las estructuras inespecíficas que modulan respuestas más complejas.

BIBLIOGRAFIA

- Adlard, B. y Smart, J. (1972): Adrenocortical function in rats subjected to nutritional deprivation in early life. *J. Endocr.* 54: 97-105.
- Ahmed, M.G.E., Bedi, K.S., Warren, M.A. y Kamel, M.M. (1987): Effect of a lengthy period of undernutrition from birth and subsequent nutritional rehabilitation on the synapse: Granule cell neuron ratio in the rat dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* 263: 146-158.
- Almi, C.R., Henault, M.A., Velozo, C.A. y Morgane, P.J. (1985): Ontogeny of electrical activity of main olfactory bulb in freely-moving normal and malnourished rats. *Brain Res.* 350: 1-11.
- Altman, J., Sudarshan, K., Das, G.D., McCormick, N. y Barnes, D. (1971): The influence of nutrition on neural and behavioral development: III. Development of some motor, particularly locomotor patterns during infancy. *Dev. Psychobiol.* 4: 97-114.
- Angulo-Colmenares, A.G., Vaughan, D.W. y Hinds, J.W. (1979): Rehabilitation following early malnutrition in the rat: body weight, brain size and cerebral cortex development. *Brain Research* 169: 121-138.
- Arikuni, T. y Kubota, K. (1985): Claustral and amygdaloid afferents to the head of the caudate nucleus in macaque monkeys. *Neurosci. Res.* 2: 239-254.
- Barnes, D. y Altman, J. (1973): Effects of different schedules of early undernutrition on the preweaning growth of the rat cerebellum. *Exp. Neurol.* 38: 406-419.
- Bass, N.H., Netsky, M.G. y Young, E. (1970): Effect of neonatal malnutrition on developing cerebrum. 1. Microchemical and histologic study of cellular differentiation in the rat. *Arch. Neurol.* 23: 289-302.
- Bermúdez-Rattoni, F., Grijalva, C.V., Kiefer, S.W. y García, J. (1986): Flavor-illness aversion: the role of the amygdala in the acquisition of taste-potentiated odor aversion. *Physiol. Behav.* 38: 503-508.
- Blackmore, D. (1973): Effect of early postnatal starvation on subsequent thyroid function. *Biol. Neonate* 23: 359-365.

- Borsini, F. y Rolls, E.T. (1984): Role of noradrenaline and serotonin in the basolateral region of the amygdala in food preferences and learned taste aversions in the rat. *Physiol. Behav.* 33: 37-43.
- Boyapati, J. y Henry, G.H. (1985): The character and influence of the claustral pathway to the striate cortex of the cat. *Exp. Brain Res.* 61: 141-152.
- Bronzino, J.D., Austin-Lafrance, R.J., Siok, C.J. y Morgane, P.J. (1986): Effect of protein malnutrition on hippocampal kindling: electrographic and behavioral measures. *Brain Res.* 384: 384-354.
- Cador, M., Robbins, T.W. y Everitt, B.J. (1989): Involvement of the amygdala in stimulus-reward associations: interaction with the ventral striatum. *Neuroscience* 30: 77-86.
- Campbell, L.F. y Bedi, K.S. (1989): The effects of undernutrition during early life on spatial learning. *Physiol. Behav.* 45: 883-890.
- Carey, R.G. y Neal, T.L. (1985): The rat claustrum: afferent and efferent connections with visual cortex. *Brain Res.* 329: 185-193.
- Carey, R.G. y Neal, T.L. (1986): Reciprocal connections between the claustrum and visual thalamus in the tree shrew (*tupaia glis*), *Brain Res.* 386: 155-168.
- Carpenter, M.C. (1978): Neuroanatomia Humana, Ed. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.
- Cassell, M.D. y Gray, T.S. (1989): Morphology of peptide - immunoreactive neurons in the rat central nucleus of the amygdala. *J. Comp. Neurol.* 281: 320-333.
- Chase, H.P., Dabiere, C.S., Welch, N.N. y O'Brien, D. (1971): Intra-uterine undernutrition and brain development. *Pediatrics* 47: 491-500.
- Chase, H.P., Lindsley, W.F.B. y O'Brien, D. (1969): Undernutrition and cerebellar development. *Nature* 221: 554-555.
- Chateau, D. y Aron, Cl. (1988): Heterotypic sexual behavior in male rats after lesions in different amygdaloid nuclei. *Hormones Behav.* 22: 379-388.
- Cintra, L., Diaz-Cintra, S., Galván, A. y Morgane, P.J. (1988): Circadian Rhythm of sleep in normal and undernourished rats. *Bol. Estud. Med. Biol. Mex.* 36 (1-4): 3-17.
- Clark, G., Zamenhof, S., Marthens, E., Grauel, L. y Kruger, L. (1973): The effect of prenatal malnutrition on dimensions of cerebral cortex. *Brain Res.* 54: 397-402.

Clos, J., Favre, C., Selme-Matrat, M. y Legrand, J. (1977): Effects of undernutrition on cell formation in the rat brain and specially on cellular composition of the cerebellum. *Brain Res.* 123: 13-26.

Cordero, M.E., Trejo, M., Garcia, E., Barros, T., Rojas, A.M. y Colombo, M. (1986): Dendritic development in the neocortex of adult rats following a maintained prenatal and/or early postnatal life undernutrition. *Early Hum. Dev.* 14: 245-258.

Cowan, W.M., Raisman, G. y Powell, P.S. (1965): The connections of the amygdala. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 28: 137-150.

Cowley, J.J. y Griesel, R.D. (1964): Low-protein diet and emotionality in the albino rat. *J. Genet. Psychol.* 104: 89-98.

Dragg, B. (1972): The development of cortical synapses during starvation in the rat. *Brain* 95: 143-150.

Crescimanno, G., Salerno, M.T., Cortimiglia, R. y Amato, G. (1989): Claustral influence on ipsi- and contralateral motor cortical areas, in the cat. *Brain Res. Bull* 22: 839-843.

Crnic, L. (1983): Effects of nutrition on brain chemistry and behavior. *Dev. Psychobiol.* 16: 129-145.

DeOlmos, J.S. (1972): The amygdaloid projection field in the rat as studied with the cupric-silver method. En: Eleftheriou B.E. (Ed.): The Neurobiology of the Amygdala. Plenum Press, N.Y. pp 145-204.

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

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

Dobbing, J. (1970): Undernutrition and the developing brain. *Am. J. Dis. Child.* 120: 411-415.

Dobbing, J., Hopewell, J. y Lynch, A. (1971): Vulnerability of developing brain: VII Permanent deficit on neurons in cerebral and cerebellar cortex following early mild undernutrition. *Exp. Neurol.* 32: 439-447.

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

Donkelaar Ten, H.J., Lammers, G.J. y Gribnau, A.A.M. (1979): Neurogenesis in the amygdaloid nuclear complex in a rodent (the Chinese hamster). *Brain Research* 165: 348-353.

Druga, R. (1989): Projections from the claustrum to the occipital cortex in the guinea pig. *Folia Morphol.* 37: 57-63.

Duncan, G.E., Breese, G.R., Criswell, H., Stumpf, W.E., Müller, R.A. y Covey, J.B. (1986): Effects of antidepressant drugs injected into the amygdala on behavioral responses of rats in the forced swim test. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 238: 756-762.

Dunn, L.T. y Everitt, B.J. (1988): Double dissociations of the effects of amygdala and insular cortex lesions on conditioned taste aversion, passive avoidance, and neophobia in the rat using the excitotoxin ibotenic acid. *Behav. neurosci.* 102: 3-23.

Dyson, S. y Jones, D. (1976): Some effects of undernutrition on synaptic development. A quantitative ultrastructural study. *Brain Res.* 114: 365-378.

Egwin, P.O., Cho, B.H. y Kummerow, F.A. (1986): Effects of postnatal protein undernutrition on myelination in rat brain. *Comp. Biochem. Physiol.* 83: 67-70.

Escobar, A. (1974): Cytoarchitectonic derangement in the cerebral cortex of the undernourished rat. En: Cravioto, J., Hambraeus, L. y Vahlquist, B. (Eds.) Early Malnutrition and Mental Development. Almquist and Wiksell, Sweden.

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

Everitt, B.J., Cadar, M. y Robbins, T.W. (1989): Interactions between the amygdala and ventral striatum in stimulus-reward associations: studies using a second-order schedule of sexual reinforcement. *Neuroscience* 30: 63-75.

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

File, S.E. y Dale, S. (1972): Effects of time of day and food deprivation on exploratory activity in the rat. *Anim. Behav.* 20: 758-762.

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

- Forbes, W.B., Tracy, C., Resnick, D y Morgane, P.J. (1977): Effect of protein malnutrition during development on sleep behavior of rats. *Experimental Neurol.* 57: 440-450.
- Frankova, S. (1973): Effect of protein-calorie malnutrition on the development of social behavior in rats. *Dev. Psychobiol.* 6: 33-43.
- Fuller, G. y Wiggins, R. (1984): Differential growth recovery within the brains of postnatally undernourished rats. *Devel. Brain Res.* 15: 280-282.
- Gambetti, P., Autilio-Gambetti, L., Rizzuto, N., Shafer, B. y Pfaff, L. (1974): Synapses and malnutrition: Quantitative ultrastructural study of rat cerebral cortex. *Expl. Neurol.* 43: 464-473.
- Gloor, P. (1960): Amygdala. En: Handbook of Physiology (J. Field, Ed) Vol. 2 American Physiol. Society, Washington pp 1395-1420.
- Goodlett, C.R., Valentino, M.L., Morgane, P.J. y Resnick, D. (1986): Spatial cue utilization in chronically malnourished rats: task-specific learning deficits. *Dev. Psychobiol.* 19: 1-15.
- Gorvachevskaia, A.I. y Lebedeva, N.E. (1981): Connections between the claustrum and cerebral cortex in the cats: study by the retrograde horseradish peroxidase axon transport method. *Arkh. Anat. Gistol. Embriol.* 80: 27-32.
- Green, J.D., Clemente, C.D. y De Groot, J. (1957): Rhinencephalic lesions and behavior in cats. *J. Comp. Neurol.* 108: 505-546.
- Griffin, W.S.T., Woodward, D.J. y Chanda, R. (1977): Malnutrition and brain development: cerebellar weight, DNA, RNA, protein and histological correlations. *J. Neurochem.* 28: 1269-1279.
- Guldin, W.O., Markowitsch, H.J., Lampe, R. y Irle, E. (1986): Cortical projections originating from the cat's insular area and remarks on claustrorocortical connections. *J. Comp. Neurol.* 243: 468-497.
- Gustafson, E.L. y Greengard, P. (1990): Localization of DARPP-32 immunoreactive neurons in the bed nucleus of the stria terminalis and central nucleus of the amygdala: co-distribution with axons containing tyrosine hydroxylase, vasoactive intestinal polypeptide, and calcitonin gene-related peptide. *Exp. Brain Res.* 79: 447-458.
- Guthrie, H.A. (1968): Severe undernutrition in early infancy and behavior in rehabilitated albino rats. *Physiol. Behavior* 3: 619-623.

- Hammer, R.F. y Marthens, E. (1981): Morphological development of the brain stem reticular core in prenatally undernourished rats. *Dev. Brain Res.* 1: 203-213.
- Haydon, F.G., McCobb, D.P. y Kater, S.B. (1987): The regulation of neurite outgrowth, growth cone motility, and electrical synaptogenesis by serotonin. *J. Neurobiol.* 18: 197-215.
- Henke, P.G. (1983): Unit-activity in the central amygdalar nucleus of rats in response to immobilization-stress. *Brain Res. Bull* 10: 833-837.
- Hernández, J., Manjarrez, G.G. y Chagoya, G. (1989): Newborn humans and rats malnourished in utero: free plasma L-tryptophan, neutral amino acids and brain serotonin synthesis. *Brain Res.* 488: 1-13.
- Hernández-Peón, R., O'Flaherty, J.J. y Mazzuchelli-O'Flaherty, A.L. (1967): Sleep and other behavioural effects induced by acetylcholinic stimulation of basal temporal cortex and striate structures. *Brain Res.* 4: 243-267.
- Hillman, D.E. y Chen, S. (1981): Vulnerability of cerebellar development in malnutrition -II. Intrinsic determination of total synaptic area on Purkinje cell spines. *Neuroscience* 6: 1263-1275.
- Hilton, S.M. y Zbrozyna, A.W. (1963): Amygdaloid region for defense reactions and its efferent pathways to the brain stem. *J. Physiol.* 165: 160-173.
- Hinova-Palova, D.V., Paloff, A.M., Usunoff, K.G., Dimova, R.N., Yossifov, T.Y. y Ivanov, D.P. (1988): Reciprocal connections between the claustrum and the auditory cortical fields in the cat. An experimental study using light- and electron microscopic anterograde degeneration methods and the horseradish peroxidase retrograde axonal transport. *J. Hirnforsch.* 29: 255-278.
- Hunt, L., Smotherman, W., Wiener, S. y Levine, S. (1976): Nutritional variables and their effects on the development of ultrasonic vocalizations in rat pups. *Physiol. Behav.* 17: 1037-1039.
- Ishimura, K., Takeuchi, Y., Fujiwara, K., Yoshioka, H., Sawada, T. y Kusunoki, T. (1989): Effects of undernutrition on the serotonin neuron system in the developing brain: an immunohistochemical study. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 50: 225-231.
- Kaada, B.R. (1972): Stimulation and regional ablation of the amygdaloid complex with reference to functional representations. En: Eleftheriou B.E. (Ed.): The Neurobiology of the Amygdala. Plenum Press, N.Y. pp 205-283.

- Kawai, S., Nakamura, H. y Matsuo, I. (1989): Effects of early postnatal undernutrition on brainstem auditory evoked potentials in weanling rats. *Biol. Neonate* 55: 268-274.
- Kemble, E.D., Blanchard, D.C., Blanchard, R.J. y Takushi, R. (1984): Taming in wild rats following medial amygdaloid lesions. *Physiol. Behav.* 32: 131-134.
- Kostarczyc, E.M. (1986): The amygdala and male reproductive functions: I. Anatomical and endocrine bases. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 10: 67-77.
- Kozik, M. y Szczech, J. (1976): Histoenzimic investigation of the rat amygdala in the course of ontogenetic development. *Acta Histochem. Bd.* 56: 24-39.
- Kuchiiwa, S., Shoumura, K., Kuchiiwa, T., Imai, H. (1984): Afferents to the cortical pupillo-constrictor areas of the cat, traced with HRP. *Exp. Brain Res.* 54: 377-381.
- Lammers, H.J. (1972): The neural connections of the amygdaloid complex in mammals. En: Eleftheriou, B.E. (Ed.) The Neurobiology of the Amygdala, Plenum Press N.Y., pp 123-144.
- Levay, S. y Sherk, H. (1981): The visual claustrum of the cat. I. Structure and connections. *J. Neuroscience* 1: 956-980.
- Levitsky, D.A. (1975): Malnutrition and animal models of cognitive development. En: Serban, G. (Ed.): Nutrition and Mental Functions, Plenum Press, N.Y. pp 75-90.
- Levitsky, D.A. y Barnes, R.H. (1970): Effect of early malnutrition on the reaction of adult rats to adverse stimuli. *Nature Lond.* 255: 468 - 469.
- Lewis, P.D., Balázs, R., Patel, A.J. y Johnson, A.L. (1975): The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. *Brain Research* 83: 235-247.
- Liang, K.C. y Lee, E.H. (1988): Intra-amygdala injections of corticotropin releasing factor facilitate inhibitory avoidance learning and reduce exploratory behavior in rats. *Psychopharmacol.* 96: 232-236.
- Livingston, K.E. y Escobar, A. (1971): Anatomical bias of the limbic System Concept. A proposed reorientation. *Arch. Neurol.* 24: 17-21.
- Luiten, P.G., Koolhaas, J.M., de Boer, S. y Koopmans, S.J. (1985): The cortico-medial amygdala in the central nervous system organization of agonistic behavior. *Brain Res.* 332: 283-297.

Lumia, A.R., Zebrowski, A.F. y McGinnis, M.Y. (1987): Olfactory bulb removal decreases androgen receptor binding in amygdala and hypothalamus and disrupts masculine sexual behavior. *Brain Res.* 404: 121-126.

Llamas, A., Avendaño, C. y Reinoso-Suárez, F. (1977): Amygdaloid projections to prefrontal and motor cortex. *Science* 195: 794-796.

Mabry, P.D. y Campbell, B.A. (1975): Food-deprivation induced behavioral arousal: mediation by hypothalamus and amygdala. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 89: 19-38.

Macchi, G., Bentivoglio, M., Minciacchi, D. y Molinari, M. (1981): The organization of the claustroneocortical projections in the cat studied by means of the HRP retrograde axonal transport. *J. Comp. Neurol.* 195: 681-695.

MacLusky, N.J., Philip, A., Hurlburt, C. y Naftolin, F. (1985): Estrogen formation in the developing rat brain: sex differences in aromatase activity during early post-natal life. *Psychoneuroendocrinology* 10: 355-361.

MacDonald, K. (1985): Early experience, relative plasticity and social development. *Devel. Rev.* 5: 99-121.

Manjarrez, G., Chagoya, G. y Hernández, J. (1988): Perinatal brain serotonin metabolism in rats malnourished in utero. *Biol. Neonate* 54: 232-240.

Markowitsch, H.J., Irle, E., Bang-Olsen, R., Flindt-Egebuk, P. (1984): Claustral efferents to the cat's limbic cortex studied with retrograde and anterograde tracing techniques. *Neuroscience* 12: 409-425.

Massaro, T.F., Levitsky, D.A., Barnes, R.H. (1977): Protein Malnutrition induced during gestation: Its effect on pup development and maternal behavior. *Dev. Psychobiol.* 10: 339-345.

Math, F. Y Davrainville, J.L. (1980): Electrophysiological study of the postnatal development of mitral cell activity in the rat olfactory bulb. Influence of undernutrition. *Brain Res.* 194: 223-227.

McDonald, A.J. (1982): Neurons of the lateral and basolateral amygdaloid nuclei: a Golgi study in the rat. *J. Comp. Neurol.* 212: 293-312.

McDonald, A.J. (1987): Organization of amygdaloid projections to the mediadorsal thalamus and prefrontal cortex: a fluorescence retrograde transport study in the rat. *J. Comp. Neurol.* 262: 46-58.

Meaney, M.J. y McEwen, B.S. (1986): Testosterone implants into the amygdala during the neonatal period masculinize the social play of juvenile female rats. *Brain Research* 398: 324-328.

Minciacchi, D., Molinari, M., Bentivoglio, M. y Macchi, G. (1985): The organization of the ips- and contralateral claustrorocortical system in rat with notes on the bilateral claustrorocortical projections in the cat. *Neuroscience* 16: 557-576.

Moga, M.M., Saper, C.B. y Gray, T.S. (1989): Bed nucleus of the stria terminalis: cytoarchitecture, immunohistochemistry and projection to the parabrachial nucleus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 283: 315-332.

Morgane, P.J., Austin, K., Siok, C., LaFrance, R. y Bronzino, J.D. (1985): Power spectral analysis of hippocampal and cortical EEG activity following severe prenatal malnutrition in the rat. *Brain Res.* 354: 211-218.

Morgane, P.J. y Kosman, A.J. (1957): Alterations in feline behaviour following bilateral amygdectomy. *Nature* 180: 598-600.

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

Morys, J., Soniewski, P. y Narkiewicz, O. (1988): Somatosensory evoked potentials following lesions of the claustrum. *Acta Physiol. Pol.* 39: 475-483.

Mourek, J., Himwich, W.A., Myslivecek, J. y Callison, D.A. (1967): The role of nutrition in the development of evoked cortical responses in rat. *Brain Research* 6: 241-251.

Nakhasi, H.L., Toews, A.D. y Horrocks, L.A. (1975): Effects of a postnatal protein deficiency on the content and composition of myelin from brains of weanling rats. *Brain Res.* 83: 176-179.

Neal, J.W., Pearson, R.C. y Powell, T.P. (1986): The relationship between the auditory cortex and the claustrum in the cat. *Brain Res.* 368: 145-151.

Nieto, A., Torrero, C. y Salas, M. (1983): Projections of the amygdala in rats during development. *Bull. Clin. Neurosci.* 48: 154-160.

Nishizuka, M. y Arai, Y. (1981): Synapse formation in response to estrogen in the medial amygdala developing in the eye. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 79: 7024-7026.

- Nitecka, L. y Ben-Ari, Y. (1987): Distribution of Gaba-like immunoreactivity in the rat amygdaloid complex. *J. Comp. Neurol.* 266: 45-55.
- Ottersen, O.P. (1982): Connections of the amygdala of the rat. IV: Corticoamygdaloid and intraamygdaloid connections as studied with axonal transport of horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 48: 205-230.
- Ottersen, O.P. y Ben-Ari, Y. (1979): Afferent connections to the amygdaloid complex of the rat and cat. I. Projections from the thalamus. *J. Comp. Neurol.* 187: 401-424.
- Patel, A. (1983): Undernutrition and brain development. *Trends in Neurosciences* 6: 151-154.
- Price, J.L. (1987): Amygdaloid complex. En: Adelman, G. (Ed.) Encyclopedia of Neuroscience Vol. I, Birkhäuser Boston, Inc., U.S.A. pp 40-42.
- Randt, C. y Derby, B. (1973): Behavioral and brain correlates in early life nutritional deprivation. *Arch. Neurol.* 28: 167-172.
- Reddy, P.V., Anasuya, D. y Sastry, P.S. (1979): Quantitative and compositional changes in myelin of undernourished and protein malnourished rat brains. *Brain Research* 161: 227-235.
- Reddy, T.S. y Horrocks, L.A. (1982): Effects of neonatal undernutrition on the lipid composition of gray matter and white matter in rat brain. *J. Neurochem.* 38: 601-605.
- Rogers, P.J., Tonkiss, J. y Smart, J.L. (1986): Incidental learning is impaired during early-life undernutrition. *Dev. Psychobiol.* 19: 113-124.
- Royce, G.J. y Laine, E.J. (1984): Efferent connections of the caudate nucleus, including cortical projections of the striatum and other basal ganglia: an autoradiographic and horseradish peroxidase investigated in the cat. *J. Comp. Neurol.* 226: 28-49.
- Sakurai-Yamashita, Y., Kataoka, Y., Yamashita, K., Miyazaki, A., Ushio, M., Mine, K., Niwa, M. y Ueki, S. (1989): Conflict behavior and dynamics of monoamines of various brain nuclei in rats. *Neuropharmacology* 28: 1067-1073.
- Salas, M. y Cintra, L. (1973): Nutritional influences upon somatosensory evoked responses during development in the rat. *Physiol. Behav.* 10: 1019-1022.
- Salas, M. y Cintra, L. (1975): Development of the electrocorticogram during starvation in the rat. *Physiol. Behav.* 14: 589-593.

Salas, M. y Cintra, L. (1979): Undernutrition and novelty responses. Influence of early food restriction on the responsiveness to novel stimuli in adult rats. *Bol. Estud. Med. Biol. Mex.* 30: 201-204, 1979.

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

Salas, M., Pulido, S., Torrero, C. y Escobar, C. (1991): Neonatal undernutrition and self-grooming development in rat: long-term effects. *Physiol. Behav.* 50: 567-572.

Salas, M., Ruiz, C., Torrero, C. y Pulido, S. (1983): Neonatal food restriction: its effects on the sleep cycles and vigil behavior of adult rats. *Bol. Estud. Med. Biol. Mex.* 32: 209-215.

Salas, M. y Torrero, C. (1979): Maternal behavior of rats undernourished in the early postnatal period. *Bol. Estud. Med. Biol. Mex.* 30: 237-244.

Salas, M., Torrero, C. y Pulido, S. (1984): Long-term alterations in the maternal behavior of neonatally undernourished rats. *Physiol. Behav.* 33: 273-278.

Salas, M., Torrero, C. y Pulido, S. (1986): Undernutrition induced by pup separation delays the development of the thalamic nucleus in rats. *Exp. Neurol.* 93: 447-455.

Salerno, M.T., Cortimiglia, R., Crescimanno, G. y Amato, G. (1989): Effect of claustrum activation on the spontaneous unitary activity of frontal eye field neurons in the cat. *Neurosci. Lett.* 98: 299-304.

Salerno, M.T., Cortimiglia, R., Crescimanno, G., Amato, G. e Infantellina, F. (1984): Effects of claustrum stimulation on bioelectrical activity of motor cortex neurons in the cat. *Exp. Neurol.* 86: 227-239.

Sarter, M. y Markowitsch, H.J. (1984): Collateral innervation of the medial and lateral prefrontal cortex by amygdaloid, thalamic and brain-stem neurons. *J. Comp. Neurol.* 224: 445-460.

Scherrer, J. y Fourment, A. (1964): Electrocortical effects of sensory deprivation during development. En: Progress in Brain Research Vol. 9 The developing brain, pp 103-112.

Schönheit, B. y Haensel, P. (1989): Neurohistological study of the dendrites of lamina V-pyramidal neurons of the rat following recovery from postnatal malnutrition. *J. Hirnforschung* 30: 385-397.

Schwaber, J.S., Sternini, C., Brecha, N.C., Rogers, W.T. y Card, J.P. (1988): Neurons containing calcitonin gene-related peptide in the parabrachial nucleus project to the central nucleus of the amygdala. *J. Comp. Neurol.* 270: 416-426.

Seidler, F.J., Bell, J.M. y Slotkin, T.A. (1990): Undernutrition and overnutrition in the neonatal rat: long-term effects on noradrenergic pathways in brain regions. *Pediatr. Res.* 27: 191-197.

Shameem, N., Sanderson, K. y Dreher, B. (1984): Claustral afferents to the rat's visual cortex. *Neuroscience Lett.* 49: 247-252..

Sharma, S.K., Nayar, U., Maheshwari, M.C. y Singh, B. (1987): Effect of undernutrition on developing rat cerebellum: Some electrophysiological and neuromorphological correlates. *J. Neurol. Sci.* 78: 261-272.

Sherwood, N.M. y Timiras, P.S. (1970): A stereotaxic atlas of the developing rat brain. University of California Press, Berkeley, U.S.A.

Shibata, S., Yamashita, K., Yamamoto, E., Ozaki, T. y Ueki, S. (1989): Effects of benzodiazepine and GABA antagonists on anticonflict effects of anti-anxiety drugs injected into the rat amygdala in a water-lick suppression test. *Psychopharmacology* 98: 38-44.

Sloniewski, P. y Pilgrim, C. (1984): Claustral-neocortical connections in the rat as demonstrated by retrograde tracing with Lucifer yellow. *Neuroscience Lett.* 49: 29-32.

Sloniewski, P., Usunoff, K.G. y Pilgrim, C. (1985): Efferent connections of the claustrum to the posterior thalamic and pretectal region in the rat. *Neuroscience Lett.* 60: 195-199.

Sloniewski, P., Usunoff, K.G. y Pilgrim, C. (1986): Retrograde transport of fluorescent tracers reveals extensive ipsi- and contralateral claustral-cortical connections in the rat. *J. Comp. Neurol.* 246: 467-477.

Smart, J. y Adlard, B. (1974): Adrenocortical function in undernourished pregnant rats. *Nutr. Reports Int.* 9: 109-116.

Stern, W.C., Miller, C.M., Forbes, W.B., Morgane, P.J. y Resnick, D. (1975): Ontogeny of the levels of biogenic amines in various parts of the brain and in peripheral tissues in normal and protein malnourished rats. *Expl. Neurol.* 49: 314-326.

Stern, W.C., Miller, M., Forbes, W.B., Leahy, J.P., Morgane, P.J. y Resnick, D. (1976): Effects of protein malnutrition during development on protein synthesis in brain and peripheral tissues. *Brain Res. Bull.* 1: 27-31.

Taber, K.H., Fuller, G.N., Stanley, J.C., DeFrance, J.F. y Wiggins, R.C. (1980): The effect of postnatal undernourishment on epileptiform kindling of dorsal hippocampus. *Experientia* 36: 69-70.

Turkewitz, G. (1975): Learning in chronically protein-deprived rats. En: Nutrition and Mental Functions Serpan, G. (Ed.), Plenum Press, New York, pp 113-120.

Ursin, H. y Kaada, B.R. (1960): Functional localization within the amygdaloid complex in the cat. *EEG and Clin. Neurophysiol.* 12: 1-20.

Valverde, F. (1963): Amygdaloid projection field. En: The Rhinencephalon and related structures. Bargmann, W. y Schade, J.P. (Eds.) Progress in Brain Res. Vol. 3, Elsevier Publ. Comp. pp 20-30 U.S.A.

Waite, P.M.E. y Taylor, P.K. (1978): Removal of whiskers in young rats causes functional changes in cerebral cortex. *Nature* 274: 600-602.

Watson, R.E., Troiano, R., Poulakos, J., Weiner, S., Block, C.H. y Siegel, A. (1983): A [¹⁴C]2-Deoxyglucose analysis of the functional neural pathways of the limbic forebrain in the rat. I. The amygdala. *Brain Research Reviews* 5: 1-44.

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

Watson, I., Smart, J. y Dobbing, J. (1976): Undernutrition in early life: lasting effects on activity and social behavior of male and female rats. *Dev. Psychobiol.* 9: 529-538.

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

Wiener, S.G., Robinson, L. y Levine, S. (1983): Influence of perinatal malnutrition on adult physiological and behavioral reactivity in rats. *Physiol. Behavior* 30: 41-50.

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

Winick, M. y Rosso, P. (1975): Malnutrition and central nervous system development. En: Brain Function and Malnutrition Prescott, J.W., Read, M.S. y Coursin, D.B. (Eds.), John Wiley & Sons, N.Y., U.S.A. pp 41-52.

Witter, M.P., Room, P., Groenewegen, H.J. y Lohman, A.H. (1988): Reciprocal connections of the insular and piriform claustrum with limbic cortex: an anatomical study in the cat. *Neuroscience* 24: 519-539.

Wood, C.D. (1958): Behavioral changes following discrete lesions of temporal lobe structures. *Neurol.* 8: 215-220.

Zar, J.H. (1974): Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N.J. U.S.A.