03068

VNIVERSIDAD NACIONAL
AVTONOMA DE
MEXICO

Unidad Académica de los Ciclos Profesional
y de Posgrado del Colegio de
Ciencias y Humanidades
Centro de Neurobiologia

DESARROLLO DE LA CONDUCTA DE JUEGO EN RATAS NORMALES Y DESNUTRIDAS NEONATALMENTE

T E S I S

Que para obtener el grado de
MAESTRA EN CIENCIAS FISIOLOGICAS

p r e s e n t a :

MARIA ANGELICA LORANCA CORTEZ

Querétaro, Qro. 1997

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Manuel Salas y a la Lic. Carmen Torrero por sus enseñanzas y por brindarme la oportunidad de obtener un logro más en mi formación académica.

A los miembros del jurado por su valioso tiempo que le dedicaron a la revisión del manuscrito, por sus comentarios y sugerencias.
Dra. Gina Quirarte.
Dra. Rebeca Chávez Genaro.
Dra. Gabriela Morali de la Brena.
Dr. Miguel Cervantes Alfaro.

A toda mi familia, por el apoyo que me han brindado en todo momento.

A la Dra. Rosa Angélica Lucio por ser guía y amiga. Como guía, al inicio de mi carrera en el campo de la investigación, ya que sus enseñanzas constituyeron las bases en el desempeño de mi trabajo, lo cual me ha permitido desarrollarme integramente, y como amiga por sus constantes muestras de amistad y de apoyo moral.

Al Lic. Rodolfo Jiménez, por la confianza que depositaste en mi, por cada uno de tus consejos que me permitieron lograr un cambio en mi vida y por ser un amigo incondicional.

Al Sr. José Avilés por su colaboración en el trabajo de fotografía.

A Magdalena Corona por la elaboración de las diapositivas para la presentación de este trabajo.

DEDICATORIAS

A mis padres : Daniel Luis Loranca y Angelina Cortez

Por su inmenso cariño, confianza y ejemplo que me han brindado, y por haber constituido un gran apoyo a lo largo de mi vida y que seguirá estando presente por siempre.

A mi hermana : Verónica Loranca

Por el apoyo incondicional que me has dado, por ofrecerme lo más valioso de ti y por creer en mi.

INDICE

INDICE

RESUMEN

RESUMEN

Durante la ontogenia neural el cerebro se organiza de a cuerdo a la expresión de factores genéticamente programados, que se complementan con los efectos dependientes de influencias medioambientales no programadas. La desnutrición perinatal es uno de los factores del ambiente exterior que con más frecuencia durante etapas críticas de la ontogenia, deteriora el desarrollo neuronal. La conducta es considerada como una expresión de la función cerebral y el estudio secuencial de sus componentes, permite entender sus orígenes, así como el establecimiento de su organización y jerarquías. Por otra parte se sabe que las relaciones estructura-función que se establecen en las primeras etapas de la vida, pudieran contribuir a generar las raíces de las cuales emergerá el repertorio conductual del sujeto adulto. De estudios previos se sabe que el desarrollo de algunos patrones conductuales como el nado, la locomoción y el autoaseo, posee un variado número de componentes motores susceptibles de medirse para evaluar indirectamente el grado de madurez del tejido cerebral. El desarrollo de la conducta de juego en la rata, también comprende el surgimiento de una serie de patrones de movimiento que alcanzan su máxima expresión durante la etapa peripuberal. Debido a que se desconocen los impactos provocados por la desnutrición neonatal sobre el desarrollo de la conducta de juego, en el presente estudio, se analizó ésta en ratas Wistar desnutridas.

La desnutrición se realizó por la separación parcial (12h) diarias (08:00 a 20:00) de la mitad de la camada (n=4) en una incubadora (28°C) del día 1 al 23 postparto. Los animales testigo provinieron de camadas en las que las crías no fueron molestadas. El destete ocurrió en ambos grupos en el día 25 postnatal, a partir del cual los animales tuvieron libre acceso al agua y al alimento (chow de Purina). Después de un periodo de aislamiento individual de 20h, se registró el juego en grupos de 4 animales del mismo sexo, durante 10 min, con luz roja en los días 20, 25, 30, 40, 50 y 60 de edad. Durante el registro del juego se midió la frecuencia del boxeo, la lucha y el encimamiento y los contactos dirigidos a la región de la nuca, dorso, flancos y tren posterior, considerando también el sexo, la condición nutricional, el tipo de juego (de pareja o de conjunto), la edad, los primeros y últimos 5 min de juego de las sesiones de registro y el juego ocurrido en las etapas prepuberal y postpuberal.

Los resultados mostraron que hay una reducción significativa en el peso corporal y un retraso en la apertura de los conductos auditivos externos y párpados de los animales desnutridos con respecto a sus controles; así como un incremento significativo en la frecuencia de juego total (boxeo, lucha y encimamiento) en las hembras, en los animales desnutridos, en el juego de pareja, durante los primeros 5 min de las sesiones de registro y durante el juego prepuberal. Con relación a los contactos corporales entre los sujetos, éstos se presentaron significativamente con mayor frecuencia en la región del dorso en las hembras con respecto a los machos, y en la nuca en los animales controles con respecto a los desnutridos. Finalmente, se encontró que los contactos dirigidos a las 4 regiones que se consideraron, fueron más frecuentes en el juego de parejas que en el de conjunto.

Los resultados obtenidos, muestran que la desnutrición neonatal, provoca un retardo en el desarrollo físico, e indirectamente sugieren que puede provocar un deterioro en el desarrollo de los mecanismos neurales que modulan los distintos componentes del juego. Asimismo, que el retardo en la maduración sensorial asociado a la desnutrición neonatal, pudiera interferir en la expresión de la conducta social durante el estado adulto.

SUMMARY

Brain growing is organized according to genetic and nonprogrammed factors that establish the limits of plastic pluripotential brain capabilities. Neonatal malnutrition is one of the most common environmental influences that at critical stages of life, severely interferes with brain development. The study of behavior and its development is a useful approach to understand how from rudimentary behavioral components early in life evolves the complex adult behavioral repertoire. Playing behavior as swimming, locomotion and self-grooming motor capabilities includes a number of motor components achieving their maximum values during the peripuberal stage and then progressively decline until postnatal day 60. Because little is known upon the effects of neonatal undernutrition on playing behavior in this study it was characterized its development in control and neonatally underfed Wistar strain rats. Neonatal undernutrition was produced by daily removing the U-pups from the nest and placing them in an incubator maintained at 29°C for 12h (08:00-20:00) from postnatal days 1-23. During this period the C-pups remained undisturbed with free access to the dam. Weaning was performed at the age of 25 days and from then on the U-pups were exposed to nutritional rehabilitation and left to remain in their homecage with free access to the food (Purina chow) and water. In order to distinguish the U-pups from their C-siblings in the nest, their heads were marked with a dot of colored washable ink. The play response was evaluated from day 20-60 postnatally by recording (10 min) the frequency of boxing, wrestling and pinning (16:00h) by using a video system. Moreover, during the recording session the number of contacts between subjects directed to the neck, thorax, lateral abdominal area and hindlimbs were also noted. In all behavioral measurements the effects of sex, nutritional condition, type of play, age, time during the recording session and peripuberal periods were compared by using a MANOVA statistical test. Body weight measurements and ear and eye-opening between groups were compared by using a two-way ANOVA and Mann-Whitney U tests. Data showed that neonatally underfed rats were lighter in weight ($p<0.05$) and ear and eye-opening were also delayed by two days ($p<0.05$) than controls. Moreover, the total frequency of play in neonatally underfed subjects, females, the play in pairs of rats, the first 5 min of the recording session and the prepuberal period were significantly increased ($p<0.05$) compared with controls. The number of body contacts between subjects were significantly increased in the thoracic area for females, in the neck region for control rats and in all measured body areas for the interaction between the 2 subjects. Present findings are consistent with the view of a direct delay in the physical growth of neonatally underfed rats. Moreover, that undernutrition and the unavoidable associated sensory deprivation may interfere with the maturation of brain modulatory mechanisms underlying motor coordination including playing behavior. In addition to these effects newborns may be also unable to receive and use novel environmental cues for neuronal growing and in the acquisition of new cognitive processes.

INTRODUCCION

INTRODUCCION

El tejido nervioso como substrato esencial para la realización de las funciones cerebrales, en sus primordios deriva del neuroectodermo de la gástrula, el cual se engrosa desde la extremidad cefálica hasta el nodo de Hensen del embrión para formar la placa neural. En un tiempo breve la placa se pliega lateralmente formando un surco longitudinal, cuyos pliegues son de mayor dimensión en la porción cefálica que en la caudal, formándose así el denominado surco neural. Poco después los bordes se fusionan para generar el tubo neural, separándose el resto del ectodermo del tubo sin dejar vestigio de su anterior continuidad (Karfunkel, 1974). Una vez que se ha formado el tubo neural de la parte anterior de éste, se formarán las tres vesículas cerebrales y de su capa periventricular se generará la mayoría de las estructuras neurales que permitirán el ensamblaje del cerebro.

Durante la formación del tubo neural algunas células de los márgenes de la placa neural, se separan dorsalmente para constituir acúmulos celulares dispuestos longitudinalmente y extendidos a cada lado de la línea media en los ángulos formados entre el ectodermo superficial y el tubo neural. Estas formaciones llamadas crestas neurales darán origen a un gran número de estructuras que comprenden entre otras a las células de Schwann, los oligodendrocitos, los ganglios de los pares craneanos y autonómicos, las células cromafines suprarrenales, los plexos intramurales del intestino, los melanocitos,

los odontoblastos, etc., cuyas funciones serán de suma importancia en cada uno de los territorios del organismo donde se ubicarán (Jacobson, 1991).

La maduración del cerebro de las especies altriciales es dependiente en un alto porcentaje de factores genéticos programados y en menor grado de factores del medio ambiente no programados o epigenéticos, que influyen en la organización citoarquitectónica y la función del cerebro (Salas y Schapiro, 1970; Morgane y col., 1993). Dentro de los procesos neurales involucrados en el desarrollo del sistema nervioso central (SNC) que son dependientes de los factores genéticos, se encuentran: la división celular (neurogénesis, gliogénesis y angiogénesis), la migración, la diferenciación celular (incluyendo la arborización dendrítica, la prolongación axonal y la formación de circuitos), la formación de sinapsis (sinaptogénesis), el proceso de mielinización, la síntesis y liberación de neurotransmisores y la muerte celular programada o apoptósis.

Dentro de los factores epigenéticos mejor conocidos, se encuentra el nivel de hormonas circulantes (Eayrs y Taylor, 1951; Salas y Schapiro, 1970; Ruíz-Marcos y col., 1982), los estímulos sensoriales (Schapiro y Vukovich, 1970; Volkmar y Greenough, 1972; Leah y col., 1985; Pascual y col., 1993; Escobar y Salas, 1995), la reducción en el aporte de nutrimentos (Salas y col., 1974; Cintra y Díaz-Cintra, 1985; Díaz-Cintra y col., 1991; Escobar y Salas, 1993; Morgane y col., 1993), el exceso de metabolitos en el microambiente celular como en el caso de la hiperbilirrubinemia (Chasin y col., 1979; Harper y col., 1986; Peñaloza y col.,

1991) y la presencia de diferentes xenobióticos en el medio interno que ejerciendo su impacto sobre las neuronas en desarrollo, limitan su crecimiento, conectividad y funcionalidad (Lorenzana y Salas, 1990; Carrillo y col., 1994).

Heterocronía y periodo crítico en la ontogenia neural

Durante la ontogenia neural, los procesos neurogenéticos no ocurren en forma sincrónica, sino que se presentan en lapsos de tiempo diferentes, la mayoría de los cuales empiezan a darse prenatalmente, prolongándose hasta un poco después del nacimiento, mientras que otros ocurren primordialmente durante el periodo postnatal (Figura 1). Estos procesos del desarrollo del cerebro pueden ser afectados por influencias diversas pre y/o postnatales, ésto depende del momento en el que las influencias ejerzan su acción con respecto al desarollo del cerebro, así como de su duración y de la severidad y el tipo de daño que provoquen. En particular, el lapso de tiempo durante el cual un factor epigenético ejerce sus efectos más marcados en el ensamblaje del cerebro se le ha denominado "periodo crítico" (Morgane y col., 1992). Estos periodos varían de una especie a otra; para el caso del desarrollo neuronal de los seres humanos se ha sugerido que empieza en la segunda mitad de la vida fetal y termina alrededor de los 18 meses después del nacimiento (Dobbing, 1972). En cambio en la rata el periodo crítico del cerebro, se ha definido como una condición casi enteramente postnatal (Morgane y col.,1993).

La severidad del daño neuronal dependerá del momento en el que los factores nocivos epigenéticos, concurran con diferentes procesos citogenéticos, como la neurogénesis, la migración, la diferenciación neuronal, la sinaptogénesis, la mielinización y la apoptósis del tejido nervioso. Esto es, que mientras mayor concurrencia entre estos factores se tenga, mayor vulnerabilidad y daño ocurrirá, siendo la inversa también cierta (Dobbing, 1972; Morgane y col., 1993). El concepto del periodo crítico tiene como antecedentes al fenómeno de la impronta de las aves (Lorenz, 1935), y al proceso de la socialización primaria del perro (Scott, 1962, 1963), que indican la gran vulnerabilidad para el seguimiento de los congéneres y la socialización conductual durante el periodo neonatal de estas especies respectivamente.

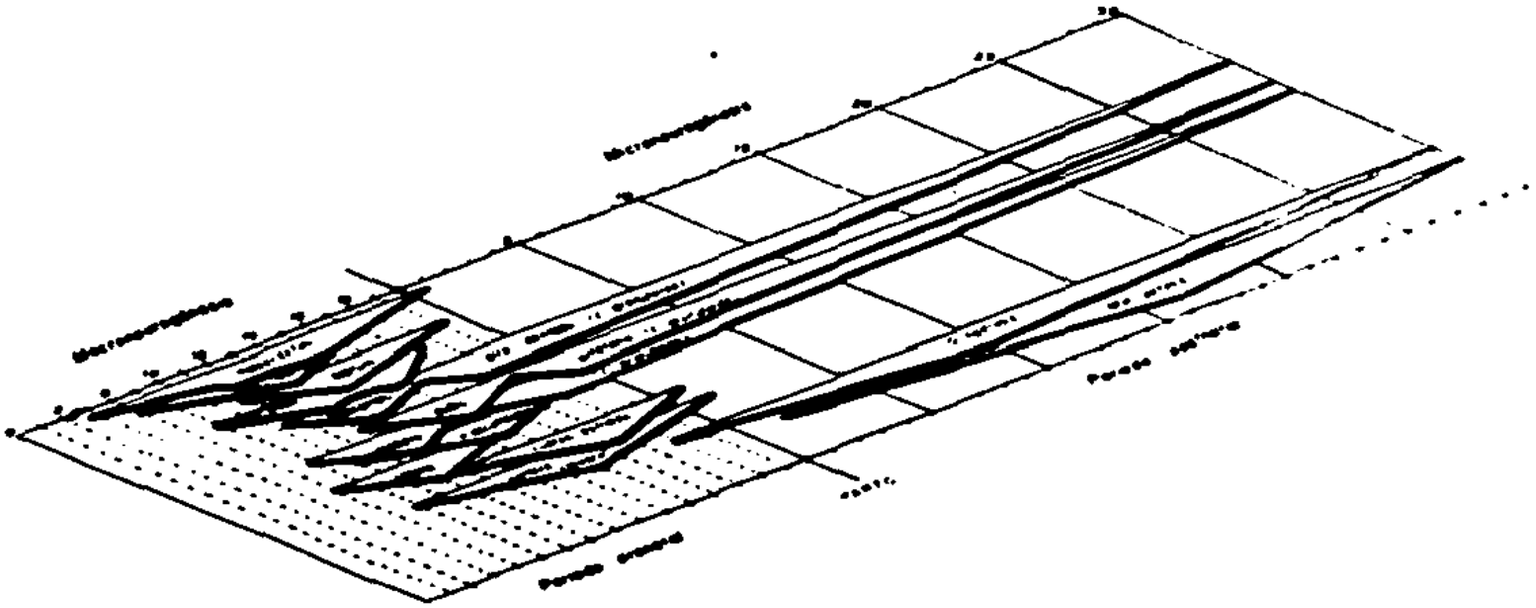

FIGURA 1. Heterocronía en la neurogénesis de diversas estructuras y procesos del desarrollo, que ocurren a nivel del sistema nervioso central de la rata. Nótese que durante el periodo prenatal, se presenta la macroneurogénesis y el inicio de la microneurogénesis, la cual es más importante durante la etapa postnatal. La gliogénesis y la mielogénesis son procesos esencialmente postnatales.

Diversos estudios indican que el programa genético que determina el ensamblaje del cerebro, está de tal manera organizado, que las estructuras cerebrales que participan en la regulación de procesos esenciales para la vida del recién nacido, maduran precozmente, con respecto a las áreas cerebrales que contribuyen posteriormente a su refinamiento. Esta forma de expresión de la información genética durante la ontogenia neural, constituye la denominada sistemogénesis (Anokhin, 1964), que se manifiesta por la presencia de diversas respuestas conductuales como los reflejos de prensión, succión e ingesta de alimento y la regulación respiratoria y cardiovascular entre otras (Figura 2). De esta información puede concluirse que la heterocronía que caracteriza al tejido cerebral en desarrollo, tiene un significado funcional esencial, para la sobrevida en la naturaleza de los recién nacidos tanto de especies altriciales, como de las precociales.

Desnutrición y desarrollo de la conducta motora

La presencia balanceada o no de nutrimentos en la dieta, es probablemente el origen de la influencia medio ambiental más importante que contribuye al desarrollo del organismo. En efecto se sabe que el suministro apropiado de los nutrimentos esenciales, es necesario para el mantenimiento y el desarrollo normal de todas las funciones orgánicas, así como en el desarrollo y la organización morfológica y funcional del sistema nervioso. El desajuste en el aporte de alimento comprende usualmente un complejo de factores que incluye

entre otros a la privación sensorial, alteraciones hormonales y de factores de crecimiento, metabolitos, etc., que interactúan con los procesos del desarrollo y la maduración del sistema nervioso. Se ha postulado que la malnutrición puede retrasar la maduración cerebral e impedir permanentemente su funcionamiento. Esto parece indicar que una de las causas básicas en el retardo del crecimiento del cerebro fetal, puede ser la malnutrición. Sin embargo, ésta y ciertos factores socioculturales parecen actuar sinérgicamente para interferir con la organización y el desarrollo del cerebro. En este contexto, varios autores han asumido que algunos aspectos de la conducta, pueden ser afectados en animales con una historia de malnutrición temprana (Altman y col., 1971; Salas y col.,1987, 1991).

FIGURA 2. El desarrollo precoz del reflejo de prensión como expresión de la heterocronía, permite a las crías de especies altriciales sujetarse continuamente a la madre para promover su nutrición y protección en el medio ambiente. Tal es el caso de la cría de koala, que permanece prendida al dorso de la madre por espacio de un año. Tomado de D. Attenborough. Life on earth. 1980.

Durante los últimos años, los efectos provocados por la desnutrición perinatal sobre el desarrollo de las funciones motoras, se han evaluado principalmente en especies altriciales por sus posibles aplicaciones a la patología del hombre. Particularmente el modelo experimental más usado ha sido la rata, que es por excelencia una especie altricial, que ofrece grandes ventajas por la posibilidad de poder controlar numerosas variables (número de crías en la camada, sexo, edad, peso, ritmos de iluminación, nutrición, etc.), que difícilmente se pueden manipular en otras especies. Así, se sabe que la desnutrición neonatal en la rata retarda el desarrollo de la conducta de nado (Salas, 1972), deteriora la capacidad de las crías para colgarse, trepar por una cuerda y regresar al nido (Altman y col., 1971), interfiere con el desarrollo de los componentes de la conducta de autoaseo como el lamido de las manos, el lavado de la cara y de la cabeza, el lamido de la piel y el rascado con las patas (Salas y col., 1991). La privación neonatal de alimento, deteriora también el desarrollo de algunos componentes de la locomoción como son la velocidad de la marcha, la longitud de la zancada y el levantamiento del tren posterior durante la deambulación (Clarke y col., 1992; Gramsbergen y Westerga, 1992). El deterioro de muchas de estas conductas parece ser sólo transitorio, aunque para algunos patrones de movimiento como el autoaseo, la locomoción y el acarreo de las crías, los efectos secundarios provocados por la desnutrición neonatal tienen un carácter permanente (Salas y col., 1991; Clarke y col., 1992), lo cual sugiere que la desnutrición y sus factores asociados retrasan la maduración de los sistemas sensoriales y la expresión de diversos patrones motores (Altman y col., 1971).

Estimulación sensorial y desarrollo de la conducta motora en la rata

El papel de los estímulos sensoriales para influir en el desarrollo cerebral, fue sugerido desde fines de la década de los años cuarenta por los trabajos clásicos de Hebb (1949). De sus estudios surgió la hipótesis de que el crecimiento de diversas estructuras cerebrales, podría relacionarse con el ingreso de las señales sensoriales. Posteriormente y en un hallazgo de tipo serendipia, Bernstein encontró que el manoseo a las crías de rata por un experimentador, incrementaba su aprendizaje y también éstas crecían más saludables (Bernstein, 1952). Poco tiempo después, se sugirió que la manipulación temprana provocada por el manoseo frecuente de las crías al ser una influencia estresante, generaba una adaptación de éstas al estrés y por lo tanto una reducción de la tensión emocional, que incidía positivamente en el aprendizaje y en la resistencia física de los sujetos (Weininger, 1956). Estudios posteriores sustentaron la idea de que la manipulación temprana, reducía la respuesta emocional al favorecer el desarrollo del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, elevando así el umbral de respuesta a situaciones de conflicto, promoviendo el aprendizaje y la adaptación al ambiente hostil (Denenberg y Morton, 1962; Levine y Mullins, 1968).

En años posteriores se estableció que la exposición de los animales recién nacidos, en grupos de 4 a 6 sujetos o bien en ambientes ricos en estímulos sensoriales, incrementaba el grosor de la corteza cerebral, el número de las ramas dendríticas distales y de sus espinas en la neocorteza, así como su

contenido de neurotransmisores (Bennett y col., 1964; Schapiro y Vukovich, 1970; Rosenzweig y Bennett, 1972; Volkmar y Greenough, 1972; Parnavelas, 1978). En estos trabajos se sugirió que la llegada de estímulos sensoriales, promueve la liberación de neurotransmisores y provoca cambios en el flujo sanguíneo capilar, que inciden en un incremento de metabolismo, el cual a su vez promueve el desarrollo neuronal y su función (Schapiro y Vukovich, 1970; Leah y col., 1985).

El insuficiente aporte de nutrimentos afecta el desarrollo del sistema nervioso, y la sustitución por una dieta apropiada más la estimulación medioambiental oportuna, pueden ayudar a prevenir el daño cerebral y en ciertos casos, a revertir estos efectos. Particularmente se conoce que la estimulación sensorial en la rata neonatalmente desnutrida, puede revertir o atenuar parcialmente las alteraciones en la conducta exploratoria y maternal, aunque no tiene efectos sobre las alteraciones del tipo de la hiperemotividad (Levitsky y Barnes, 1972; Salas y col., 1984; Escobar y Salas, 1987).

Ontogenia de la conducta de juego en la rata

El entendimiento de la dinámica de la ontogenia de la conducta social es de importancia critica para la evaluación de la conducta adulta. En este sentido Lehrman en 1962, propuso que por el análisis de la ontogenia conductual, se puede entender la organización y las causas que determinan los patrones conductuales. Los hallazgos obtenidos tanto en experimentos de campo como de

laboratorio, han permitido concluir que el desarrollo normal de las conductas depende de una adecuada interacción entre los miembros de una misma camada (Bekoff, 1972), por lo que el individuo requiere de interacción social temprana, ya que las relaciones establecidas en las primeras etapas de la vida pueden contribuir inmesurablemente a la organización subsecuente de la conducta. Se ha argumentado que la conducta de juego, puede ser una fuente de experiencia fundamental para el establecimiento de la conducta social del sujeto adulto que incluye entre otras a la agresión, la dominancia del grupo, la sexualidad y la conducta gregaria. De esta manera se ha establecido que los beneficios obtenidos del juego, pueden agruparse en cinco aspectos: a) un gran impacto sobre el tejido cerebral por vía del ejercicio físico, b) perfeccionamiento de habilidades no sociales, c) destreza en las habilidades sociales incluyendo relaciones competitivas asociadas con actividades sociales, d) incremento en el desarrollo del sistema nervioso central, y e) promover la eficiencia y el refinamiento en la expresión conductual (Burghardt, 1988).

De estudios ontogenéticos previos realizados en la rata se sabe que es escasa la proporción con la que se presenta la conducta de juego, ya que ésta solo comprende hasta un máximo de 3% del tiempo total de la observación, lo cual es una limitante para un análisis amplio y detallado del juego. No obstante, de estudios anteriores se ha establecido que el aislamiento social previo a una sesión de juego en los roedores, suele incrementar importantemente la frecuencia

del mismo (Panksepp y Beatty, 1980), sugiriendo lo anterior que la privación sensorial previa es un elemento motivador del juego.

El juego entre las ratas juveniles fue reconocido desde 1899 por Small, quien describió que las ratas empezaban a jugar alrededor de los 18 días de edad, y aproximadamente por el día 25 se daba plenamente el repertorio de esta conducta. Es decir, cuando el desarrollo de los mecanismos nerviosos y musculares ha llegado a un grado de maduración suficiente (Altman y col., 1971; Salas y Cintra, 1973), ya que los animales corren, saltan, trepan, simulan agresividad con mordidas, araños, roen la jaula, etc., lo cual requiere de una amplia coordinación neuromuscular. Años después, varias descripciones del juego social en la rata fueron hechas por otros autores. (Bolles y Woods,1964; Baenninger,1967; Poole y Fish, 1975; Olioff y Stewart, 1978). Así, Baenninger (1967), asumió que la elaboración de la conducta social en la rata se da entre los 9 y 92 días de edad, mostrando una secuencia temporal similar a la de una curva en forma de U invertida, con un pico entre los días 30-36. En un estudio realizado anteriormente por Müller-Schwarze (1966), ya se había observado que la secuencia del juego a través de la edad seguía un patrón muy similar al de una U invertida. Asimismo, observaron que el juego se incrementaba en un promedio de 200 a 350 seg entre los días 26 al 40 postparto, declinando gradualmente hasta desaparecer aproximadamente por el día 58 de edad. Más tarde, se realizó un estudio sobre la ontogenia del juego, en el que se consideró al encimamiento entre dos sujetos en el piso, como el mejor componente para evaluar esta

conducta. En este trabajo, se observaron datos muy similares a los obtenidos anteriormente, ya que su secuencia temporal de desarrollo sigue la forma de una curva en U invertida, teniendo una mayor actividad entre los 22 y 52 días de edad, presentando un pico entre los 32 y los 40 días y declinando gradualmente para desaparecer en edades posteriores (Panksepp, 1981).

En la rata la ontogenia de diferentes patrones de movimiento como la conducta de autoaseo (Richmond y Sachs, 1980; Salas y col., 1991), del nado (Salas, 1972), de la locomoción (Gramsbergen y Westerga, 1992) y de la conducta de juego (Panksepp, 1981) siguen un curso temporal muy similar. Así, al nacimiento solo hay el esbozo de algunos de sus componentes. Durante las 3 primeras semanas postparto, y a medida que se desarrolla el substrato neuromuscular sobre el que se expresa la programación neural del movimiento, el repertorio conductual se va enriqueciendo en sus componentes y se van refinando los movimientos para hacer adaptativos los patrones conductuales a las demandas medioambientales. Durante este mismo periodo, la mayoría de los componentes conductuales se encuentran exagerados, sugiriendo ésto que los mecanismos que participan en su modulación, aún no alcanzan su completo desarrollo. Por el contrario alrededor del primer mes postnatal, puede observarse que los diversos componentes de los patrones conductuales, reducen sus valores significativamente para mantenerse así por el resto de la vida de los animales (Salas y col., 1991).

Factores que modifican la conducta de juego en la rata

El análisis sistematizado de la conducta de juego social en la rata, muestra que ésta se encuentra fuertemente influenciada por la edad, ya que como se mencionó anteriormente esta conducta se presenta con mayor frecuencia en un lapso de tiempo determinado, el cual comprende la etapa peripuberal de los sujetos. Asimismo, diferentes autores han observado que el juego es una conducta sexualmente dimórfica, ya que se presenta con mayor frecuencia en los machos. Para el caso de la rata y la oveja, los machos juegan con mayor frecuencia que las hembras, (Poole y Fish,1976; Meaney y Stewart, 1981a, b; Thor y Holloway, 1983, y Orgeur, 1995). El dimorfismo sexual en la conducta de juego se ha atribuido en parte, a la presencia de andrógenos durante el periodo crítico para la diferenciación sexual, ya que se ha observado que la presencia de andrógenos en otros periodos no parece ser necesaria para la expresión del juego en el macho. Este hallazgo se ha corroborado al observar que las ratas macho castradas durante la primera semana de edad, juegan con menor frecuencia con respecto a sus controles, y en cambio al realizar la castración en el día 10 de edad, no se observan diferencias en el juego con respecto a los machos intactos (Beatty y col., 1981; Meaney y Stewart, 1981b). En otros estudios, se ha inyectado a hembras propionato de testosterona ó 5α dihidrotestosterona en los primeros 2 días de edad y se ha observado que estas hembras presentan un juego muy similar a los machos normales (Meaney y Stewart, 1981b). Sin embargo, Ward y Stehm (1991) sugieren que el periodo de

sensibilidad hormonal para la organización del juego, sé inicia durante la ontogenia prenatal, ya que ellos registraron el juego de ratas obtenidas de madres estresadas durante la gestación y observaron que estos animales pasan menos tiempo jugando. Aunque otros autores asumen que el juego se presenta antes de la pubertad y que no depende de la acción de hormonas gonadales (Beatty y col., 1981; Meaney y Stewart, 1981b), y que pueden influir otro tipo de factores, por ejemplo se ha planteado que el tamaño del espacio en el que se encuentran los animales determina el dimorfismo sexual en esta conducta. Cuando el tamaño de la jaula es pequeño los machos juegan con menor frecuencia con respecto a las hembras (Klinger y Kemble, 1985). También existía la noción de que las diferencias sexuales estaban basadas en las diferencias del peso corporal, pero se ha planteado que éste no influye en la conducta de juego ya que el peso corporal mayor de un sujeto, no suele ser un factor importante para la dominancia en el juego, a veces el animal más ligero de peso, es el que domina en el juego de encimamiento (Panksepp, 1981).

Substrato neural que regula la conducta de juego

De diversos estudios se ha establecido que la desnutrición neonatal en la rata, interfiere con el desarrollo de los mecanismos moduladores del ingreso de las señales sensoriales al SNC (Math y Davrainville, 1980; Salas y col., 1991), resultando una deficiencia significativa en la integración de la información aferente y en la elaboración de respuestas hacia los efectores periféricos

correspondientes durante el estado adulto. Esta alteración podría parcialmente ser la responsable de los trastornos en la atención selectiva, la habituación y el aprendizaje que caracterizan a los animales neonatalmente desnutridos (Salas y col., 1994).

Aunque poco se conoce acerca de los mecanismos neurales involucrados en la regulación de la conducta de juego, es común observar que las especies que juegan con más frecuencia y que tienen formas más complejas de juego, son aquellas que tienen un cerebro proporcionalmente más grande (Fagen, 1981). Se han realizado pocos estudios que, han ayudado a identificar algunas áreas del cerebro que pueden ser críticas para la elaboración de la conducta de juego en ratas juveniles. Así, Beatty y col., 1982 lesionaron el área septal y observaron que se provocaba un incremento en la iniciación y en la frecuencia del juego en ratas juveniles de ambos sexos. La bulbectomía olfatoria también incrementa la frecuencia de juego, sin alterar la iniciación de éste y únicamente en las ratas hembra, ya que en los machos no se observan cambios significativos (Beatty y Costello, 1983). Otras áreas neurales que pueden ser de importancia particular en la regulación del juego son las áreas parafascicular y la posterior del tálamo, ya que el daño de estas zonas decrementa de un 70-80% la frecuencia del encimamiento (Siviy y Panksepp, 1987). Posteriormente, se corroboró que efectivamente al lesionar estas áreas se reduce significativamente la frecuencia del encimamiento, así como la motivación del juego, ocurriendo algo similar cuando se lesiona el tálamo posterior, aunque en este caso no se afecta la

motivación del juego. En cambio cuando se lesiona el complejo ventrobasal del tálamo, hay una reducción mínima y transitoria en la frecuencia del encimamiento así como en la motivación de la conducta (Siviy y Panksepp, 1987). En estudios más recientes, se ha observado que hay un decremento en la frecuencia del encimamiento y un incremento en la capacidad de defensa durante el juego, cuando se lesiona la corteza rinal, del cíngulo y la frontal de la línea media (Pellis y col., 1992). También se sugiere que el sistema estriatal está involucrado en la selección apropiada de los elementos conductuales, para mantener un orden en la secuencia del juego (Pellis y col., 1993) (Figura 3).

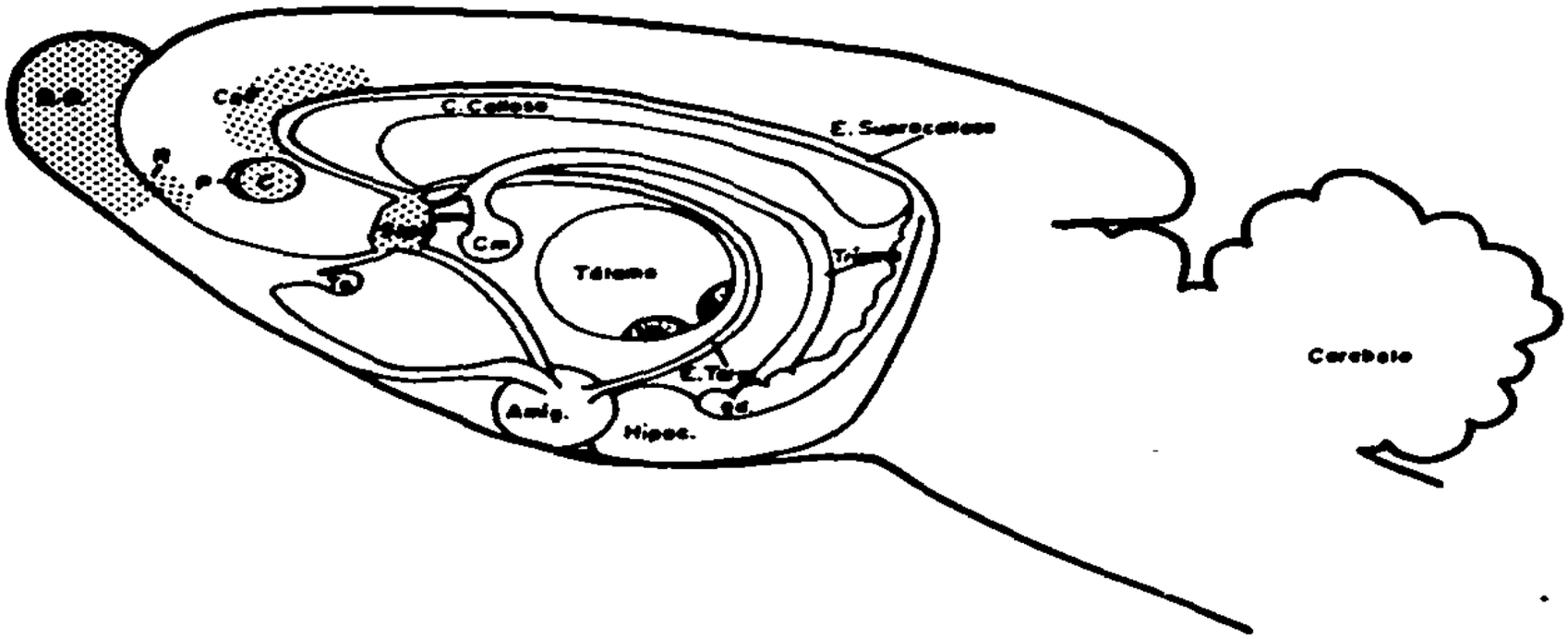

FIGURA 3. Estructuras del sistema límbico-estriado y diencefálico que participan en la integración de la conducta de juego. Las zonas sombreadas indican la ubicación de estas estructuras en el cerebro de la rata.

Efectos de la desnutrición perinatal sobre el desarrollo del juego en la rata

A pesar del conocimiento que se tiene acerca del curso temporal en el desarrollo del juego en los roedores, de algunos de los parámetros con los que se expresa, de los factores que lo modifican y de las posibles estructuras que participan en su regulación, aún es enorme la brecha que nos impide saber con claridad acerca de su significado para el crecimiento del cerebro, y las consecuencias que provoca su alteración para el desarrollo de la conducta social en el largo plazo.

En el presente, es escasa la información de que se dispone acerca del impacto provocado por la desnutrición sobre el desarrollo de la conducta de juego en la rata. En un estudio preliminar de nuestro grupo se sugirió que esta actividad mostraba alteraciones significativas en ratas desnutridas en la etapa neonatal (Escobar y Salas, 1988). La iniciación del juego se retrasaba de 2 a 4 días, el contacto social y el juego rudo que incluía la lucha, el boxeo, la persecución y el sometimiento se incrementaban en su frecuencia a partir del día 24 postnatal, hasta la edad de 32 días en la que el estudio se suspendió. En este reporte se evaluó la conducta de juego en la mitad de la fase de luz del ciclo cuando el juego no necesariamente está en su mayor apogeo. Además, solo se analizó el juego colectivo y no el de parejas y tampoco se consideró el aumentar la motivación al juego, al someter a un periodo previo de aislamiento a los sujetos a los que posteriormente se les midió esta conducta, como se ha realizado en estudios más recientes (Pellis, 1994).

~PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
~HIPOTESIS
~OBJETIVOS

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con fundamento en estos antecedentes, y teniendo en cuenta que se conoce poco acerca de las alteraciones producidas por la desnutrición neonatal sobre el desarrollo de la conducta de juego, en el presente estudio, se caracterizan los componentes de este patrón conductual, así como el papel que desempeña el retardo en el crecimiento corporal y la privación sensorial parcial que acompañan a la desnutrición neonatal en la rata.

HIPOTESIS

En el presente estudio se establece que las alteraciones en el desarrollo de la conducta de juego provocadas por la desnutrición neonatal en la rata, están asociadas al retardo en el desarrollo físico y a la reducción en el ingreso de las señales sensoriales al cerebro en crecimiento.

OBJETIVOS

1.- Caracterizar el desarrollo de la conducta de juego en ratas hembras y machos normales y desnutridas durante el periodo neonatal.

2.- Determinar si la frecuencia con la que se presentan los patrones conductuales del juego, cambia durante el curso de las sesiones de registro tanto en el tipo de juego de parejas como del de conjunto entre animales del mismo sexo.

3.- Caracterizar el tipo de juego durante las etapas pre y postpuberal en ratas normales y desnutridas de ambos sexos.

4.- A través del análisis de los componentes del juego de ratas desnutridas de ambos sexos, generar conocimiento acerca de los posibles mecanismos neurales que están involucrados en su desarrollo.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS

Para el desarrollo del presente estudio se emplearon ratas vírgenes adultas (250-300 g) de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) y sus camadas correspondientes, nacidas en el bioterio del Centro de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los animales se mantuvieron en condiciones de 12 h de luz (08:00 a 20:00h) por 12 h de obscuridad en un cuarto con temperatura controlada a 23°C ± 2°C, con libre acceso al agua y al alimento (chow de Purina).

Animales

Para la obtención de los sujetos experimentales, se aparearon un total de 40 ratas hembra vírgenes adultas (6 hembras/caja) de las cuales se utilizaron solo 32 para el experimento, quedando 8 de reserva para substituir a los sujetos que fallecieran o que se enfermaran durante el curso del experimento. Las hembras con un peso corporal de 250-300 g (n= 3/caja) se cruzaron con machos adultos normales (n = 2/caja), en jaulas de plástico (50 x 35 x 20 cm) con agua y alimento (chow de Purina) *ad libitum*. Tres días antes del parto, las ratas preñadas se colocaron en cajas de maternidad de plástico transparente (45 x 30 x 20 cm), con aserrín en el piso (3 cm de altura), agua y alimento (chow de Purina) *ad libitum*. Para precisar la fecha del parto se revisaron las cajas de maternidad diariamente por la mañana (08:00h) y por la noche (20:00h). En caso de

encontrarse crías con la madre o de que ésta se encontrase pariendo, se anotaba esa fecha como día cero de edad. A las 24h después del parto, se mezclaron las crías provenientes de varias madres que habían parido el mismo día, ajustándose cada camada a un total de 8 crías por madre (4 hembras y 4 machos). La maniobra de redistribución de crías a cada una de las madres, tuvo como propósito el minimizar la participación de posibles factores genéticos y diferencias biológicas entre las camadas, que pudieran influir en los hallazgos experimentales. Se utilizaron 128 animales distribuidos en 4 grupos diferentes; un grupo de controles hembras (n=32) y un grupo de controles machos (n=32); un grupo de desnutridos hembras (n=32) y un grupo de desnutridos machos (n=32).

Procedimientos

Desnutrición

Para desnutrir a las crías, se empleó el método de desnutrición por privación (DXP) de la mitad de la camada (n=4; hembras o machos), colocándola en una incubadora (marca Figursa Co.) a temperatura regulada (28°C) durante 12 h (08:00 a las 20:00h) diariamente del día 1 al 23 de edad, los 4 animales restantes de cada camada permanecieron todo el tiempo con la madre en el nido. Durante el tiempo que las crías permanecieron en la incubadora, aparte de desnutrirse y mantener su temperatura, fueron aisladas de los estímulos provenientes de la madre, del ambiente del nido y del ruido o de la actividad del

personal del laboratorio. Durante el periodo de la desnutrición, se marcó a las crías desnutridas en la cabeza con un punto de color deleble igual al de su camada, para identificarlas fácilmente al regresarlas por la noche al nido correspondiente. A partir del día 25 de edad a los animales se les destetó manteniéndolos con libre acceso al agua y al alimento (chow de Purina), en las condiciones medioambientales de luz y obscuridad antes mencionadas para promover su rehabilitación nutricional. El grupo control se integró con crías (n=8, 4 hembras y 4 machos/camada), que permanecieron todo el tiempo con la madre en el ambiente del nido con libre acceso a la succión, excepto para evaluar su desarrollo físico y para realizar los registros de la conducta de juego.

En el día 30 postnatal se sexaron los sujetos de ambas condiciones experimentales y continuaron su crecimiento hasta el día 60 de edad, en grupos de 4 ratas por jaula de plástico transparente (50 x 35 x 20 cm) en las condiciones del ambiente del bioterio antes mencionadas. El desarrollo físico de las crías se evaluó a través de la determinación del peso corporal cada 5 días, (día 1 al 30 postparto) y en los 40, 50 y 60 días de edad. Asimismo, se determinó la apertura de los conductos auditivos externos (días 9 al 16 postparto) y de los párpados (días 13 al 19 postparto). En el día 30 de edad se marcó a los animales previamente desnutridos con una muesca en el borde de la pinna para facilitar su identificación en edades posteriores.

Registro y evaluación de la conducta de juego

La conducta de juego se filmó con una videocámara marca Cannon E70, 8 mm iluminando el ambiente con una luz roja de 70 watts colocada a 60 cm de distancia de los animales. Las pruebas se llevaron a cabo en la última fase del ciclo de luz (16:00h). Para el registro se utilizó un cilindro de plástico transparente (39 cm de diámetro X 40 cm de altura X 1.5 mm de grosor), con cama de aserrín de 3 cm de altura y colocando el cilindro dentro de una cámara sonoamortiguada (3.60 X 3.60 X 2.10 m) ubicada dentro del área del laboratorio.

Las pruebas de la conducta de juego se realizaron en los días 20, 25, 30, 40, 50 y 60 de edad, llevándose a cabo éstas de la siguiente manera: los miembros de cada uno de los grupos se aislaron 20h antes del registro (20:00 a 16:00h), en una caja de plástico transparente individual (29 X 17 X 12 cm) con agua y alimento *ad libitum* (chow de Purina). Excepto para la prueba que se realizó en el día 20 de edad del grupo experimental (desnutridos), ya que los animales de este grupo sólo tuvieron libre acceso al agua y alimento por 12h (20:00 a 08:00h) para continuar con el proceso de aislamiento. El aislamiento se llevó a cabo colocando las cajas con cada animal en un estante, ubicado dentro de un cuarto sonoamortiguado (2.50 X 2.00 X 2.20 m) a 23° ± 2°C anexo a la cámara de registro. Posteriormente, la conducta de juego se filmó durante 10 min en cada uno de los grupos (n= 4 machos o hembras).

La evaluación de la conducta de juego se llevó a cabo posteriormente mediante la observación de las filmaciones en cámara lenta, en una videograbadora marca Sony, modelo SLV-X511 en la que se cuantificó la frecuencia de los siguientes parámetros definidos como sigue:

a) Boxeo.- dos ratas permanecen en posición erecta y moviendo sus miembros anteriores en actitud de golpearse (Figura 4A).

b) Lucha.- las ratas ruedan forcejeándose mutuamente en el piso (Figura 4B).

c) Encimamiento.- una rata se encima sobre otra y la que permanece sumisa forcejea para poder escapar (Figura 4C).

Con el propósito de identificar si el juego es similar cuando éste ocurre en el juego de parejas o en el de conjunto, así como si el juego que se presenta durante el periodo prepuberal es diferente al postpuberal, el patrón de juego se clasificó en juego de pareja, de conjunto, prepuberal y postpuberal.

Además de la cuantificación de los parámetros de los tipos de juego mencionados, también se contaron los contactos ocurridos en diferentes partes del cuerpo entre los sujetos. De esta manera se consideraron el número de los contactos dirigidos a la región de la nuca, flancos, pelvis y dorso. Los contactos se cuantificaron solo durante los intervalos donde no se presentaban los parámetros conductuales del juego.

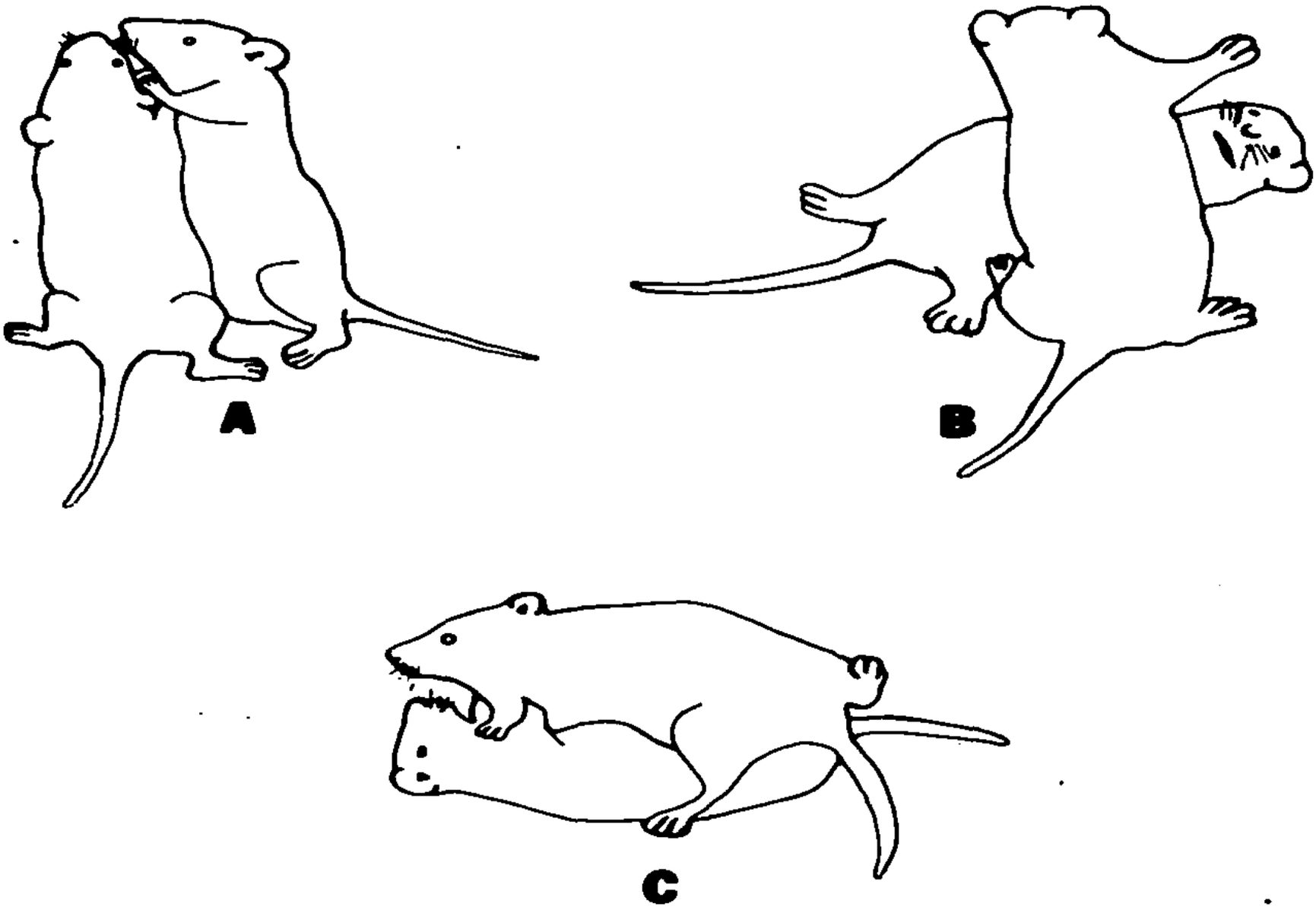

FIGURA 4. Diferentes aspectos de la ocurrencia temporal de los parámetros conductuales de boxeo (A), lucha (B) y encimamiento (C) que se presentan durante la conducta del juego de parejas en la rata.

Evaluación del desarrollo físico

Para la evaluación de la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados se dio un puntaje de 1, al inicio de la apertura 2, cuando la apertura fue de alrededor del 50%, y 3, cuando la apertura fue total.

Estadística

Los hallazgos experimentales obtenidos se analizaron mediante el empleo del paquete estadístico SYSTAT, Versión 2.1. La comparación de los 3 (Parámetros de la Conducta de Juego), X 2 (Condiciones Nutricionales), X 6 (Días de Registro) se llevó a cabo mediante el empleo de un análisis multivariado (MANOVA). La comparación de 2 (Tipos de Juego, de Parejas o de Conjunto), X 2 (Etapas de Juego, Prepuberal y Postpuberal), X 2 (Condiciones Nutricionales), se evaluó también con el empleo de un análisis multivariado. Las diferencias en los pesos corporales se analizaron mediante el uso de un ANOVA de 2 (Condiciones Nutricionales), X 9 (Edades). También se realizaron pruebas Post hoc de Tukey cuando el caso lo requirió. La comparación de las diferencias entre los valores correspondientes a la apertura de ojos y oidos, se realizó empleando la prueba de U de Mann-Whitney. En todas las comparaciones estadísticas que se realizaron el nivel mínimo de significancia se estableció en el 5%.

RESULTADOS

RESULTADOS

De una manera general los hallazgos experimentales obtenidos en el presente estudio, indican que la privación de alimento durante el periodo neonatal en una especie altricial como es el caso de la rata, provoca alteraciones severas tanto en el desarrollo físico como en la expresión de la conducta de juego. A continuación se describen las alteraciones más significativas asociadas a la desnutrición.

Alteraciones en el desarrollo físico

Efectos sobre el peso corporal

Con relación a las diferencias obtenidas en el peso corporal entre los animales controles y los desnutridos empleados en este estudio, se encontró que a lo largo de las 9 edades que se consideraron en ambos grupos, hubo un incremento gradual del peso corporal, siendo para las hembras en el día 5 de 11.76 ± 0.27gr para el grupo control y de 10 ± 0.29gr para el grupo desnutrido (DXP). En contraste a la edad de 60 días el grupo control tuvo un peso promedio de 188.84 ± 4.0gr mientras que el grupo desnutrido fue de 169 ± 2.7gr. Para el caso de los machos el peso corporal en el día 5 de edad fue de 12.71 ± 0.35gr para el grupo control y de 10.73 ± 0.25gr para el grupo desnutrido. Sin embargo, a

los 60 días de edad los del grupo control pesaron en promedio 236.65 ± 5.56gr y los del grupo desnutrido 219.9 ± 2.81gr (Figura 5).

El análisis de las diferencias en los pesos corporales obtenidos a lo largo de las 9 edades entre los animales controles y los desnutridos, indicó una reducción significativa en el peso corporal del grupo DXP, $F(8,629)= 1584.16$, $p<0.0001$.

Tomando en cuenta que en estudios previos se ha establecido que el peso corporal de los animales, puede resultar en diferencias en la expresión de la conducta de juego; asimismo, que debido a que las ratas hembras tienden a pesar menos que las ratas machos, en el presente estudio se llevó a cabo una comparación entre los pesos corporales de los animales controles y de los desnutridos en cada uno de los sexos a lo largo del estudio.

Alteraciones en el peso corporal de las ratas hembras

La Figura 5A, muestra el efecto de la edad y de la condición nutricional sobre el peso corporal de ratas hembras controles y desnutridas a lo largo de las 9 edades del estudio. En dicha figura puede observarse que ambos grupos experimentales muestran un incremento gradual en el peso corporal y asimismo que el grupo privado de alimento durante el periodo neonatal, muestra una baja de peso corporal estadísticamente significativa (pruebas de Tukey, $p<0.0001$) con

respecto a sus testigos (Figura 5A). Por otra parte es de llamar la atención que la diferencia de peso corporal entre los grupos presenta un incremento gradual a lo largo del estudio, siendo pequeño durante los primeros 15 días de vida y mayor en las edades posteriores.

Alteraciones en el peso corporal de las ratas machos

Los resultados obtenidos con respecto a los pesos corporales en los animales machos de ambas condiciones experimentales, son similares a los observados para el caso de las hembras (Figura 5). Esto es, puede observarse un incremento gradual del peso corporal con respecto a la edad y también se observa que los machos desnutridos presentan un peso corporal estadísticamente menor con respecto a sus controles ($p<0.0001$). De una manera similar las diferencias de peso son pequeñas hasta los 15 días de edad, aumentando de manera significativa en las edades posteriores. También es de notarse que el valor de los pesos corporales de los machos en ambos grupos experimentales, es mayor que el de las hembras empleadas en este estudio, particularmente después del día 40 postparto (Figura 5A y 5B).

Los hallazgos presentados muestran de una manera clara y consistente que los animales desnutridos hembras y machos de ambos grupos experimentales, tienen una baja significativa de sus pesos corporales que sugiere que podría tratarse de un efecto a largo plazo sobre el desarrollo físico. En efecto, estudios realizados en nuestro laboratorio como en otros empleando diferentes modelos de

desnutrición, han mostrado que en las mismas edades de los animales aquí estudiados y en edades posteriores la baja de peso es una secuela permanente asociada a la desnutrición perinatal.

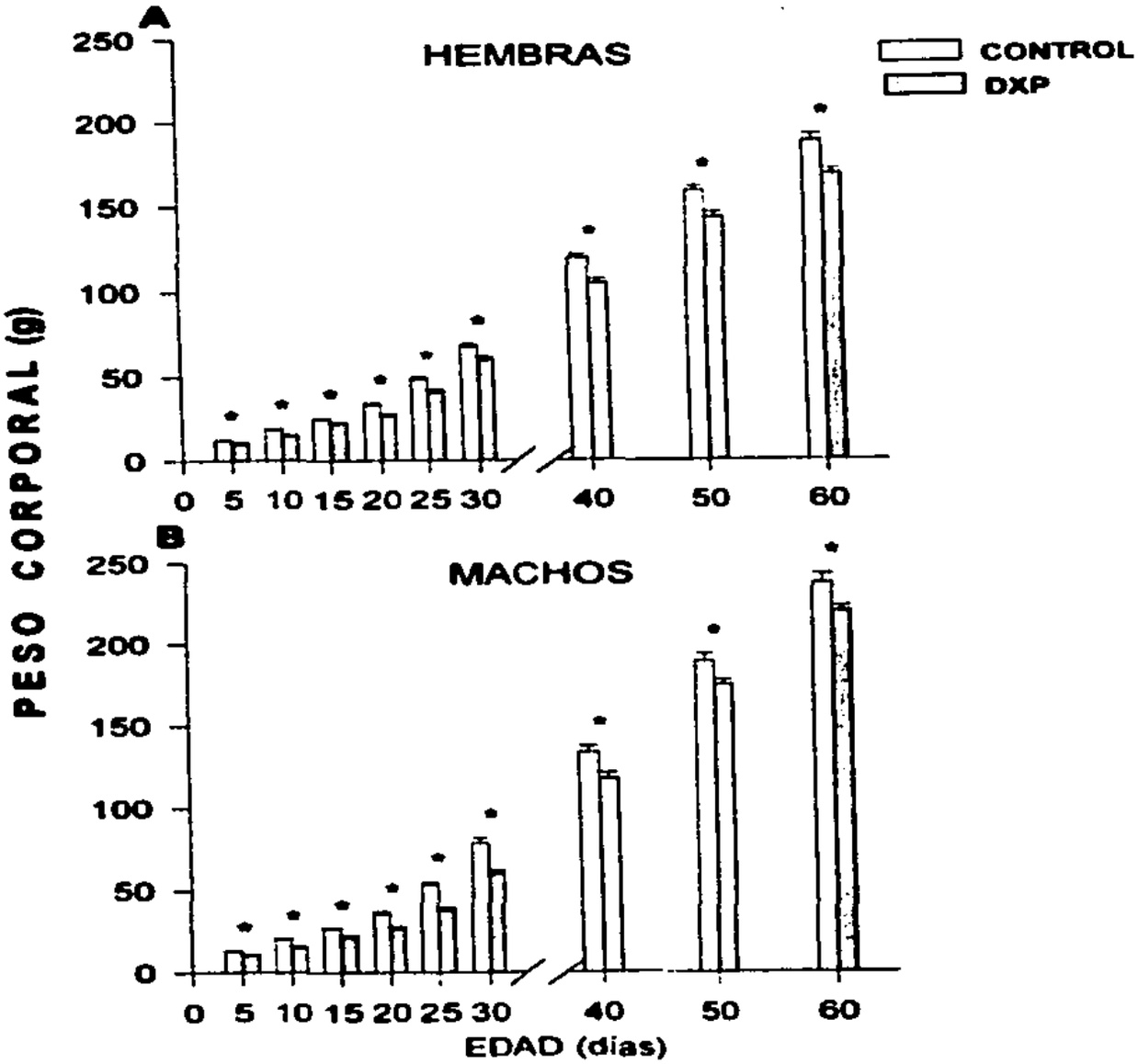

FIGURA 5. Variaciones de la ganancia de peso corporal de ratas hembras (A) y machos (B) controles (barras blancas) y desnutridas (DXP, barras sombreadas) durante el desarrollo. Los animales desnutridos consistentemente, mostraron una reducción significativa, $p<0.05$ (asteriscos) en el peso corporal en comparación con sus testigos. En ésta y en las gráficas siguientes se indica el valor de la media y su error estándar correspondiente.

Otras alteraciones en el desarrollo físico

Con relación al empleo de otros parámetros de evaluación del desarrollo físico, los hallazgos del presente estudio mostraron que los animales de ambos sexos desnutridos durante el periodo neonatal, tuvieron un retardo significativo ($p<0.05$) de 2 días en la apertura de los conductos auditivos externos, con relación a sus testigos correspondientes (Figura 6A). En cuanto a la comparación de la apertura de los conductos auditivos externos para hembras y machos en cada una de las condiciones nutricionales no se observaron diferencias significativas.

Con respecto a la apertura palpebral de ambos sexos, se observó un retardo significativo ($p<0.05$) de 2 días para su completa apertura con respecto a sus testigos (Figura 6B). La comparación estadística de este mismo parámetro entre hembras y machos en relación a la misma condición nutricional no reveló diferencias significativas.

Otro hallazgo consistente obtenido de este estudio fue la baja de la talla corporal de los animales desnutridos con relación a sus controles (Figura 7). Este es un efecto que al principio de la desnutrición es poco ostensible, pero que a medida que el animal va incrementando su edad la reducción en talla es más marcada y persistente a largo plazo.

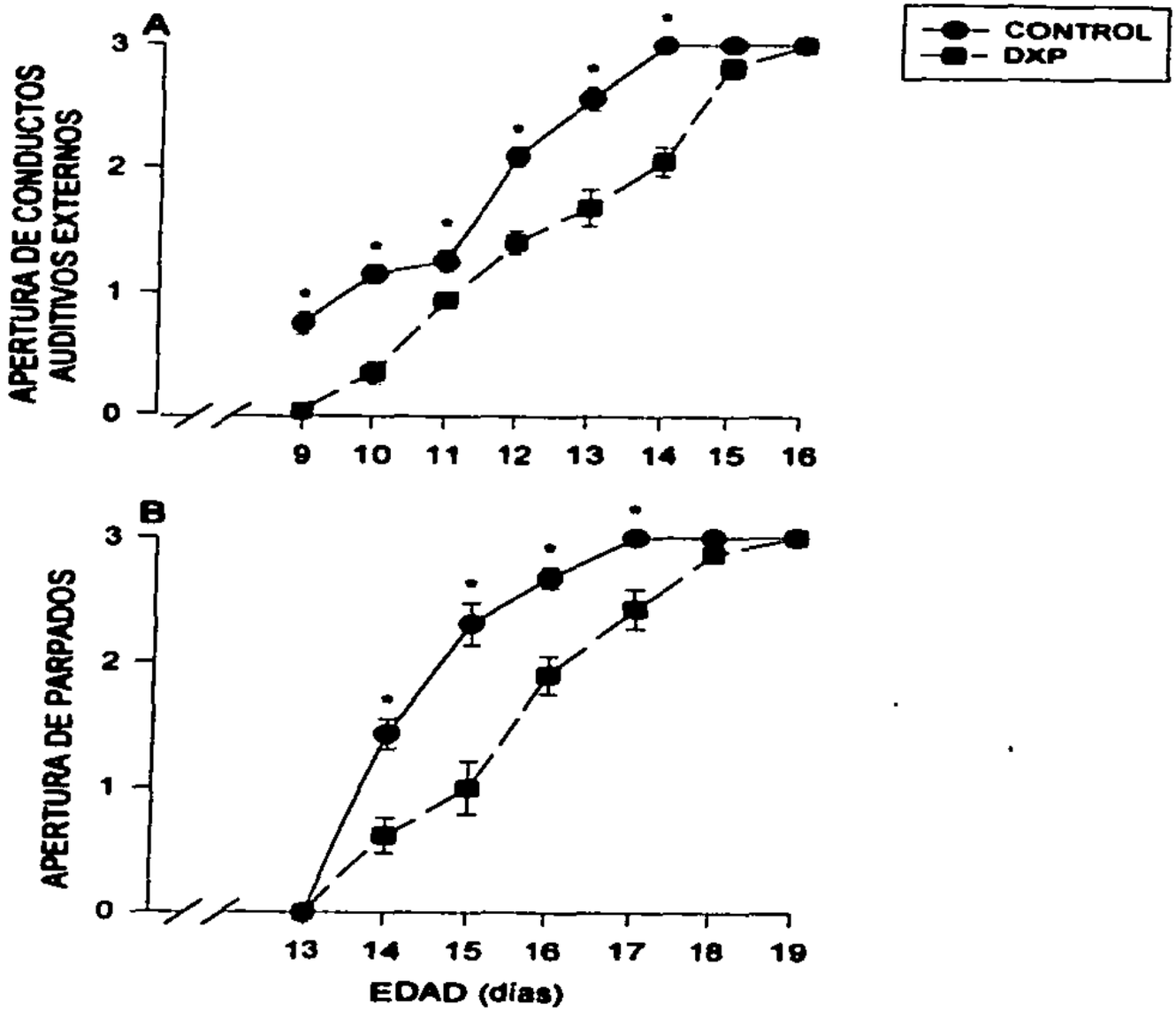

FIGURA 6. Curso temporal de la apertura de los conductos auditivos externos (A) y de la apertura de los párpados (B) en ratas controles y desnutridas (DXP) durante el desarrollo. Los animales del grupo DXP muestran valores significativamente menores, $p<0.05$ (asteriscos) en la apertura de sus conductos auditivos externos y un retardo de 2 días para alcanzar los valores de sus controles. Asimismo, el grupo DXP también muestra en la apertura de sus párpados valores significativamente menores a $p<0.05$ (asteriscos) y un retardo de 2 días para alcanzar los valores de sus testigos.

Finalmente, la inspección gruesa del pelaje de los animales desnutridos de ambos sexos mostró un claro deterioro en el desarrollo del pelo, el cual consistió en la presencia de pelo corto, delgado, poco brillante y con implantación rala.

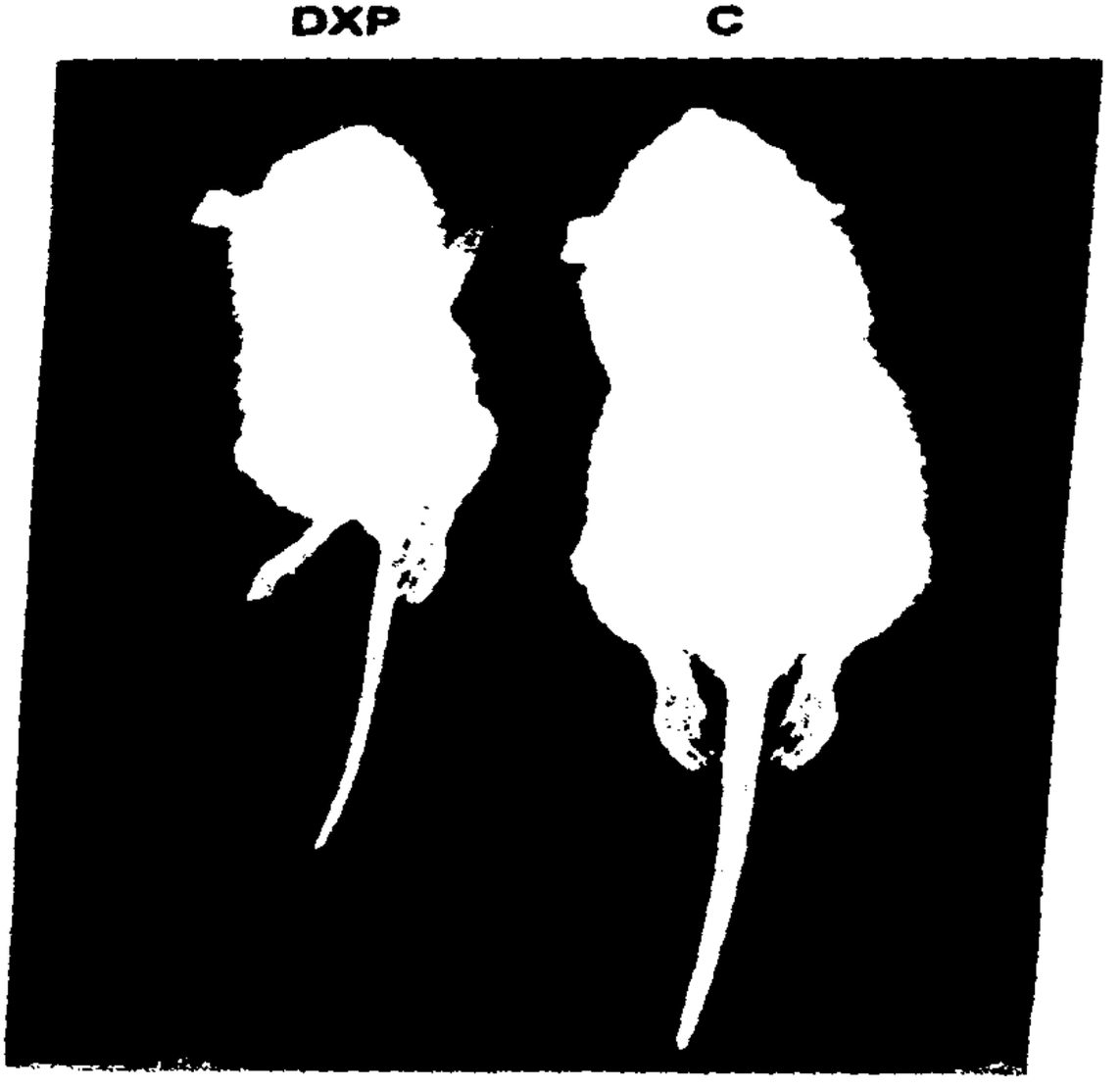

FIGURA 7. Aspecto general que presenta una rata control (C) y una desnutrida (DXP) a la edad de 25 días. Nótese, que la rata DXP es más pequeña con respecto a su testigo. Estas alteraciones se acompañan de una baja significativa en el peso corporal, un retardo en la apertura de ojos y oídos y alteraciones en las características del pelo (no mostradas en la figura).

Efectos sobre el desarrollo de la conducta de juego

Efectos relacionados con el sexo

De diversos estudios se sabe que existe un dimorfismo en la expresión de los diferentes componentes de la conducta de juego. Los resultados del presente trabajo indican que cuando se comparó conjuntamente la frecuencia del boxeo, la lucha y el encimamiento (valor medio de la frecuencia de juego total) entre hembras y machos independientemente de su condición nutricional, el análisis multivariado indicó que las hembras juegan más, $F(1,375)=4.807$, $p<0.029$, con respecto a los machos a lo largo del estudio (Figura 8A). Este hallazgo es particularmente claro en el día 25 de edad, con una tendencia a reducirse en edades posteriores. Este efecto parcialmente apoya la conclusión de hallazgos previos que sugieren que las hembras, juegan más que los machos al tener pesos corporales menores.

Efectos relacionados con la condición nutricional

Con respecto a los efectos ligados con la condición nutricional sobre el desarrollo de la conducta de juego, se encontró que los animales desnutridos muestran un incremento significativo $F(1,375)=26.745$, $p<0.0001$ en la frecuencia de los distintos componentes del juego (Figura 8B) con respecto a sus testigos. Este incremento es más consistente del día 40 de edad en adelante y en todos los casos es mayor que la frecuencia del juego correspondiente al día 20 postparto. Para el caso de esta variable no se obtuvieron diferencias significativas, en sus interacciones con el sexo, el tipo de juego y la edad.

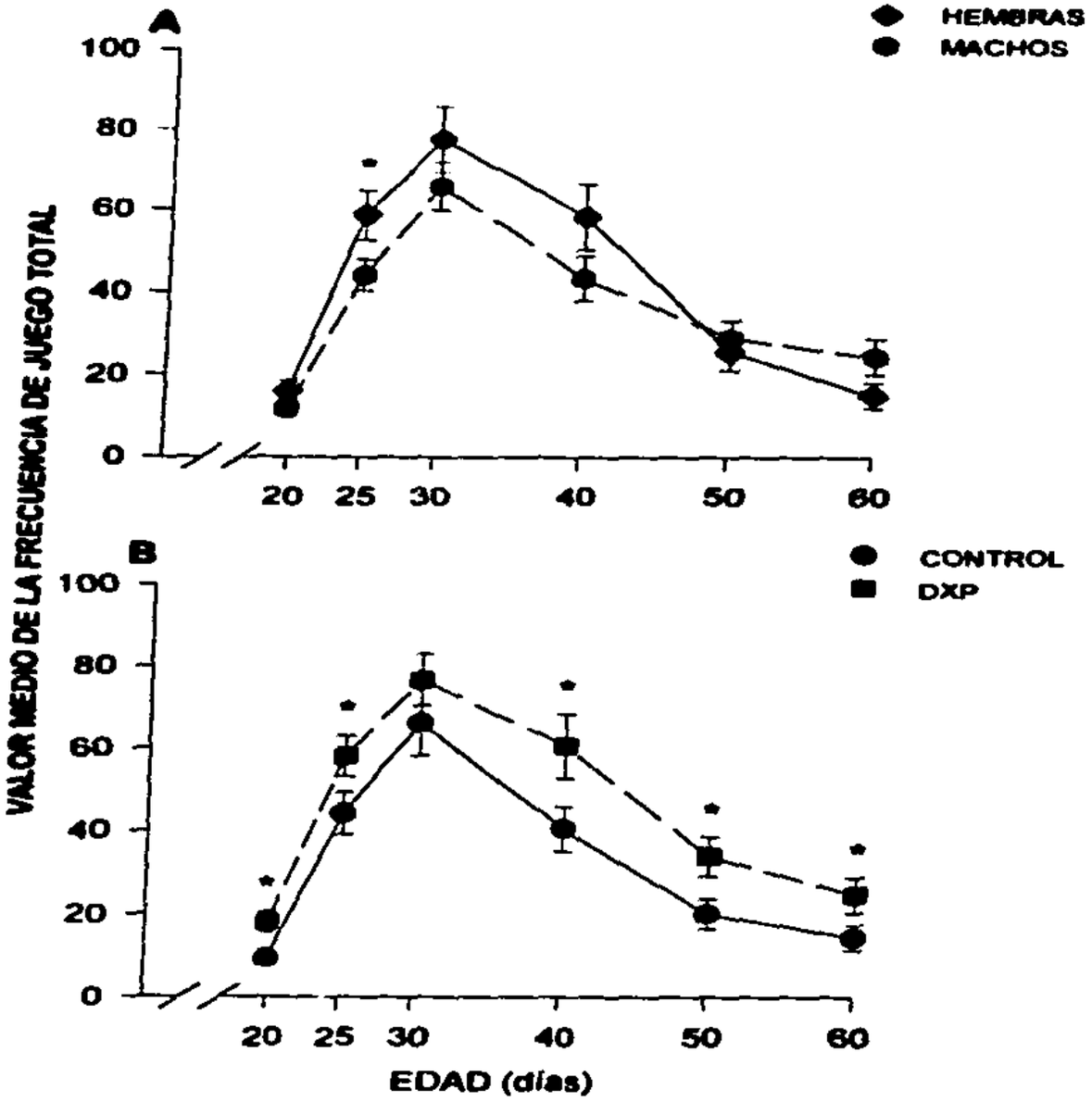

FIGURA 8. Curso temporal del valor medio de la frecuencia de juego total con respecto al sexo (A) y a la condición nutricional (B). El análisis post-hoc utilizando pruebas de Tukey en cada uno de los días del estudio, muestra solo diferencias significativas en el día 25 de edad a favor de las hembras (arriba) y en los días 20, 25, 40, 50, y 60 de edad a favor del grupo DXP (abajo).

Efectos relacionados con el tipo de juego (juego de pareja y de conjunto)

Por lo que concierne a la comparación de los distintos parámetros conductuales en el juego de pareja *versus* el de conjunto, se observó que los animales independientemente de su sexo y condición nutricional, juegan con mayor frecuencia en el juego de pareja con respecto al juego de conjunto $F(1,375)=149.165$, $p<0.0001$ (Figura 9A). El máximo de frecuencia de ambos tipos de juego se obtuvo en la edad de 30 días, alcanzando valores de alrededor de 95 y 45 para el juego de pareja y de conjunto respectivamente. De este análisis resulta clara la tendencia de los animales a jugar más en parejas que de manera grupal. El análisis estadístico también mostró diferencias significativas para las interacciones entre el factor tipo de juego X el factor sexo, $F(1,376)=5.08$, $p<0.02$, y el factor tipo de juego X el factor edad, siendo esta última aún más significativa $F(1,372)=3.75$, $p<0.002$.

Influencia de la edad sobre el desarrollo del juego

Con relación a la variable edad los resultados muestran que independientemente del sexo, condición nutricional y el tipo de juego, la actividad del juego va modificándose a lo largo del desarrollo de acuerdo a una curva en forma de U invertida, $F(5,375)=53.861$, $p<0.0001$ (Figura 9B). No se obtuvieron diferencias significativas en la interacción de la edad X el sexo. El curso temporal del desarrollo de la conducta de juego aquí obtenido, confirma la gran similitud que existe con el desarrollo de otros patrones de movimiento como la locomoción, el nado y el autoaseo.

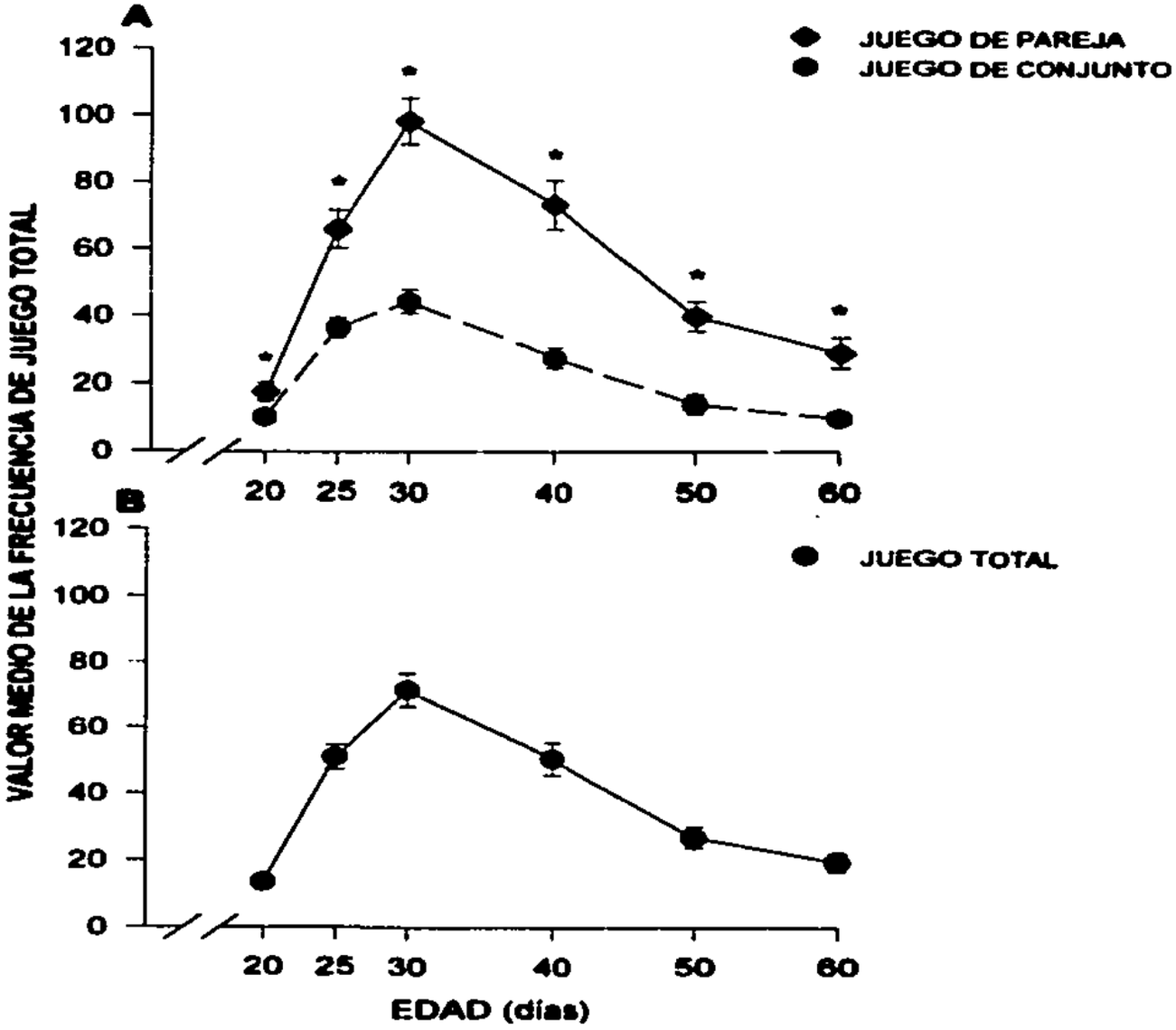

FIGURA 9. Curso temporal del valor medio de la frecuencia de juego total con respecto al tipo de juego (A) y a la edad (B). El análisis post-hoc utilizando pruebas de Tukey en cada uno de los días del estudio, muestra diferencias significativas a $p<0.05$ (asteriscos) para todos los días de registro a favor del juego de pareja (arriba) y con respecto a la edad se observa que el juego total (incluyendo el sexo, condición nutricional y tipo de juego) sigue la forma de una curva en U invertida, presentándose con mayor frecuencia en el día 30 de edad (abajo).

Análisis del desarrollo de la conducta de juego en cada uno de sus parámetros

Al analizar estadísticamente cada uno de los parámetros conductuales del juego se observó que el boxeo no es significativamente diferente para la condición nutricional, pero sí para el sexo $F(1,375)=9.45$, $p<0.002$, el tipo de juego $F(1,375)=180.64$, $p<0.0001$ y la edad $F(5,375)=8.72$, $p<0.0001$. El análisis estadístico también mostró diferencias significativas para las interacciones entre el factor sexo X el factor tipo de juego, $F(1,381)=12.41$ $p<0.0001$; el factor sexo X el factor edad $F(5,377)=2.53$, $p<0.028$ y el factor tipo de juego X el factor edad $F(5,373)=5.80$ $p<0.0001$. Para el caso de la lucha no se obtuvieron diferencias significativas para el sexo, pero sí para la condición nutricional $F(1,375)=21.70$, $p<0.0001$, el tipo de juego $F(1,375)=155.09$, $p<0.0001$ y la edad $F(5,375)=51.69$, $p<0.0001$ (Figura 10). En este caso, también hubo diferencias significativas para las interacciones entre el factor sexo X el factor tipo de juego $F(1,381)=3.71$ $p<0.05$ y el factor tipo de juego X el factor edad $F(5,373)=3.86$ $p<0.002$. Sin embargo con respecto al encimamiento, éste fue el único parámetro en el que se obtuvieron diferencias significativas en las 4 variables; condición nutricional $F(1,375)=33.28$, $p<0.0001$, sexo $F(1,375)=11.12$, $p<0.001$, tipo de juego $F(1,375)=88.58$, $p<0.0001$ y edad $F(5,375)=52.94$, $p<0.0001$ (Figura 11). Obteniéndose diferencias significativas para las interacciones entre el factor sexo X el factor tipo de juego $F(1,381)=4.83$ $p<0.02$ y para el factor tipo de juego X el factor edad $F(5,373)=2.68$ $p<0.02$.

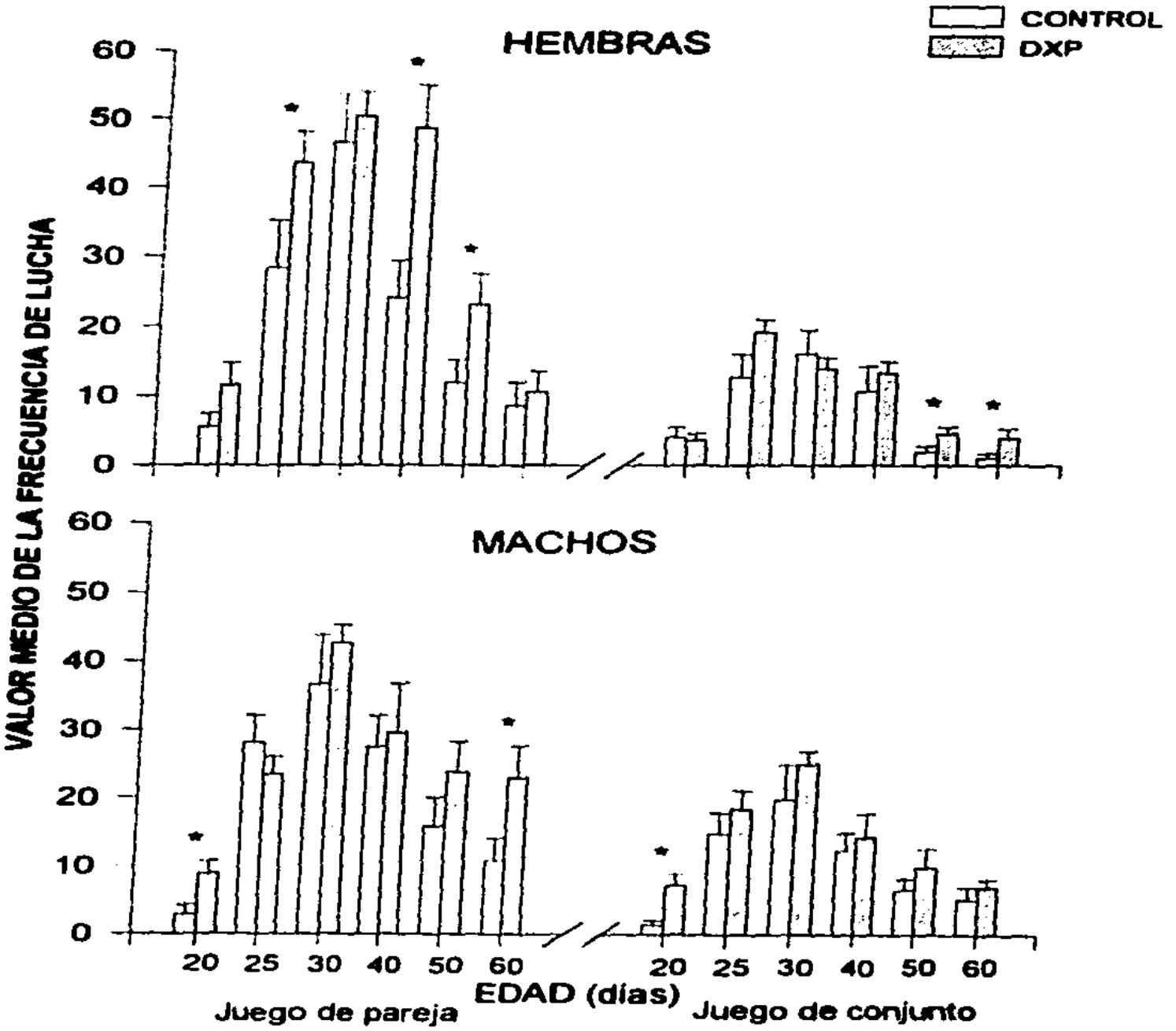

FIGURA 10. Valores medios de la frecuencia de la lucha en ratas hembras y machos normales y desnutridas (DXP) en desarrollo, durante el juego de pareja y de conjunto. En ambas condiciones nutricionales, tipos de juego y sexos, el curso temporal de la lucha tiene la forma de una curva en U invertida. Por otra parte en las hembras y en los animales desnutridos, hay una tendencia general a incrementarse el juego tanto en parejas como en conjunto, con diferencias significativas $p<0.05$ (asteriscos) solo en algunos de los días de registro (pruebas de Tukey).

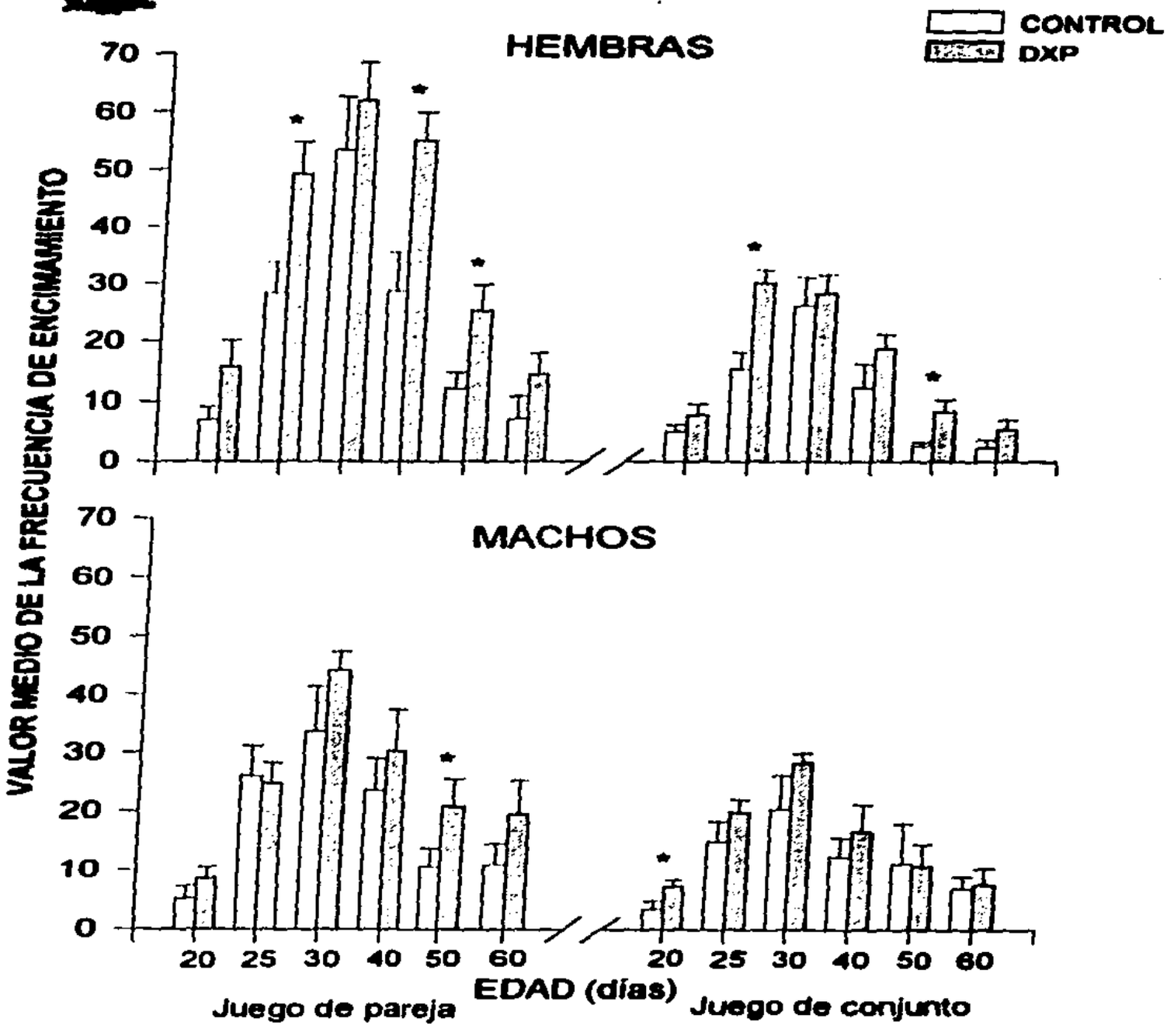

FIGURA 11. Valores medios de la frecuencia del encimamiento en ratas hembras y machos controles y desnutridas (DXP) en desarrollo, durante el juego de pareja y de conjunto. En ambas condiciones nutricionales, tipos de juego y sexos, el curso temporal del encimamiento tiene la forma de una curva en U invertida. Asimismo, en las hembras con respecto a los machos y en los desnutridos con relación a los testigos, hay una tendencia general a incrementarse el juego tanto en parejas como en conjunto, con diferencias significativas $p<0.05$ (asteriscos) solo en algunos de los días de registro (pruebas de Tukey).

Desarrollo del curso temporal de la frecuencia de la conducta de juego total durante las sesiones de registro

Tomando en cuenta que la expresión de la conducta de juego a lo largo del desarrollo tiene un curso temporal en forma de U invertida, se quiso analizar si el curso temporal y la frecuencia del juego total en cada una de las sesiones de registro era igual o diferente. Con este propósito, se llevó a cabo una comparación de la frecuencia de los distintos componentes del juego ocurridos durante los primeros 5 minutos del registro *versus* los que se presentaron en los siguientes 5 minutos de cada una de las sesiones, considerando tanto el juego de pareja como el de conjunto.

Los resultados obtenidos revelaron que la frecuencia de los distintos componentes del juego ocurridos durante los primeros 5 minutos, fue consistentemente mayor comparada con la correspondiente a los siguientes 5 minutos, $F(1,758)=335.042$, $p<0.0001$. Este incremento en los diferentes componentes del juego ocurrido en la primera mitad de cada una de las sesiones, es también dependiente del sexo $F(1,758)=6.521$, $p<0.01$, la condición nutricional $F(1,758)=35.134$, $p<0.0001$, el tipo de juego $F(1,758)=189.358$, $p<0.0001$ y el factor edad $F(5,758)=67.147$, $p<0.0001$ (Figura 12). Asimismo, se obtuvieron también diferencias significativas para las interacciones entre el sexo X tipo de juego $F(1,758)=5.55$, $P<0.01$, tiempo X tipo de juego $F(1,750)=20.27$, $p<0.0001$, tiempo X edad $F(5,750)=8.25$, $p<0.0001$ y edad X tipo de juego $F(5,750)=4.96$,

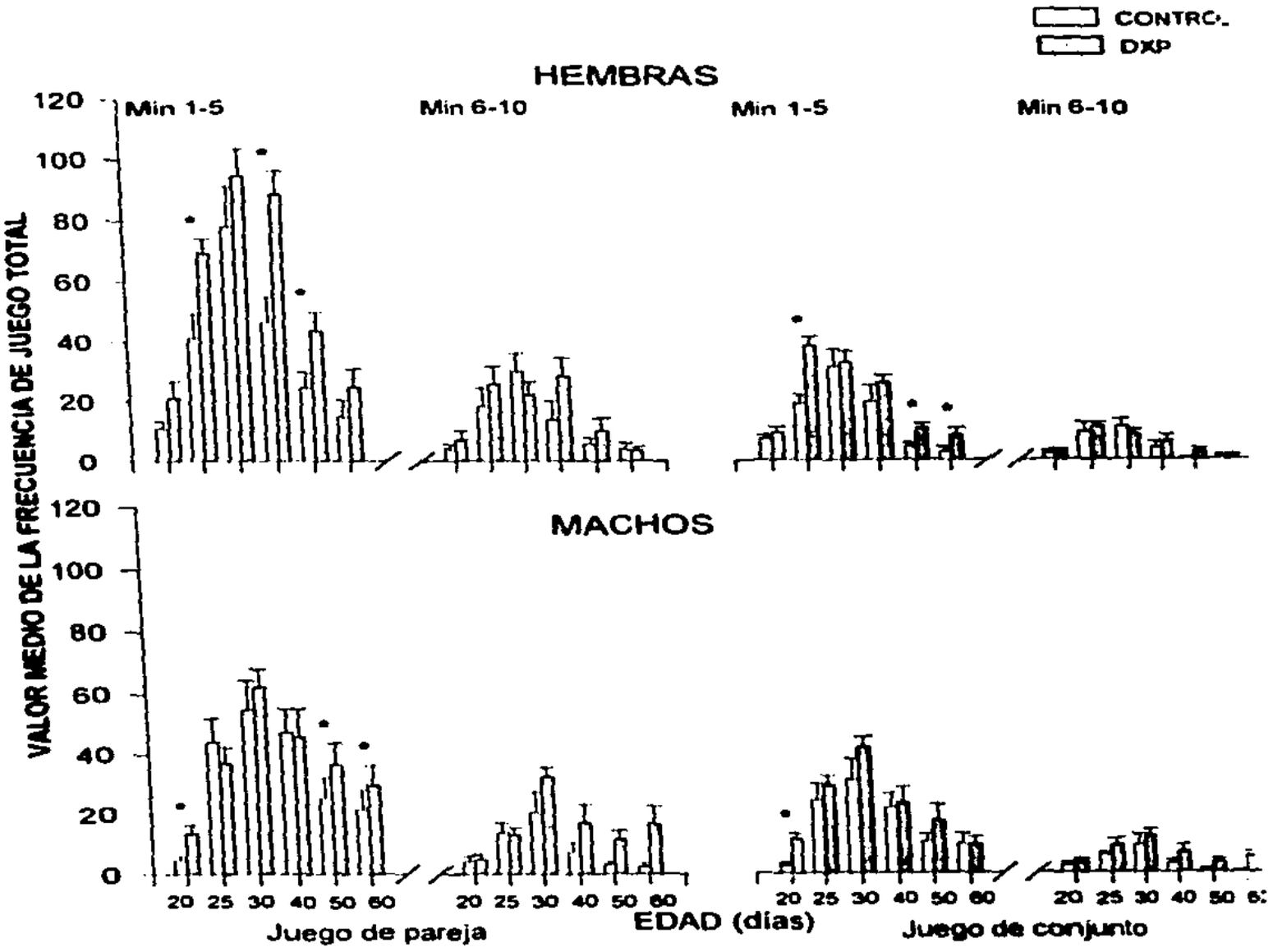

FIGURA 12. Valor medio de la frecuencia de juego total de ratas hembras y machos controles y desnutridas (DXP) en desarrollo , durante el juego de pareja y de conjunto, cuando se comparan los primeros 5 minutos vs los últimos 5 minutos de cada una de las sesiones de juego. Nótese que la frecuencia de juego total, es mayor durante los primeros 5 minutos vs los últimos cinco, mayor en las hembras que en los machos, en los desnutridos que en los controles, $p<0.05$ (asteriscos, pruebas de Tukey), y mayor en el juego de parejas que en el de conjunto.

$p<0.0001$. Los hallazgos muestran que la frecuencia del juego es mayor en la primera mitad de cada sesión de registro que en la segunda. Esto es, que parece ocurrir un efecto de familiaridad y pérdida de la novedad de la primera parte de la sesión, a la última en el juego de ambos tipos. Asimismo, que el perfil unimodal de la curva de juego, no se pierde ni a lo largo del desarrollo, ni tampoco en cada sesión o parte de ella tanto en el juego de pareja como en el de conjunto.

Correlación entre la expresión de la conducta de juego y la edad

De estudios previos se sabe que la expresión de los diversos componentes del repertorio conductual de las especies altriciales es altamente dependiente de influencias neuroendócrinas. Con fundamento en esta premisa, se quiso indagar acerca de la participación del sexo, la condición nutricional y el tipo de juego sobre la frecuencia de los componentes de éste, durante el periodo prepuberal *versus* el postpuberal.

Efectos sobre el desarrollo de la conducta de juego total prepuberal y postpuberal

Al comparar la frecuencia conjuntada del boxeo, la lucha y el encimamiento, el análisis estadístico indicó que el juego prepuberal y postpuberal son diferentes significativamente con respecto al sexo $F(1,123)=4.026$, $p<0.047$. No considerando la condición nutricional y el tipo de juego, se observó que las

hembras juegan con mayor frecuencia con respecto a los machos en la etapa prepuberal, presentando una tendencia no significativa en este mismo sentido en la etapa postpuberal (Figura 13A). En cuanto a la condición nutricional, sin considerar el sexo y el tipo de juego, también se obtuvo una diferencia significativa, $F(1,123)=19.573$, $p<0.0001$; en este caso, los animales desnutridos jugaron con mayor frecuencia en ambas etapas con respecto a sus controles (Figura 13B). Con referencia al tipo de juego, sin considerar el sexo y la condición nutricional se observó que el juego de pareja es más frecuente en comparación al de conjunto, siendo estadísticamente diferente tanto en la etapa prepuberal como en la postpuberal, $F(1,123)=106.827$, $p<0.0001$, (Figura 13C). Finalmente, se puede observar que el juego total analizado durante las etapas pre y postpuberal, sin diferenciar el sexo, la condición y el tipo de juego, es más frecuente en la etapa prepuberal (Figura 13D). Para el caso del juego total prepuberal y postpuberal el análisis estadístico no indicó diferencias significativas en cuanto a las interacciones.

Curso temporal de la frecuencia de la conducta de juego prepuberal y postpuberal durante las sesiones de registro

Al comparar la frecuencia de los tres parámetros conductuales registrados en este estudio, el análisis estadístico indicó que el juego durante los primeros 5 minutos muestra una diferencia significativa $F(1,259)=243.59$, $p<0.0001$, *versus* los segundos 5 minutos. También se obtuvo que el juego

prepuberal y postpuberal durante estos dos intervalos de tiempo en las sesiones de registro es significativamente diferente $F(1,250)=243.59$, $p<0.0001$, obteniéndose lo mismo para el sexo $F(1,250)=4.76$, $p<0.03$, la condición nutricional $F(1,250)=25.549$, $p<0.0001$ y el tipo de juego $F(1,250)=137.87$, $p<0.0001$ (Figura 14), y también para la interacción tiempo X tipo de juego $F(1,250)=11.293$, $p<0.001$.

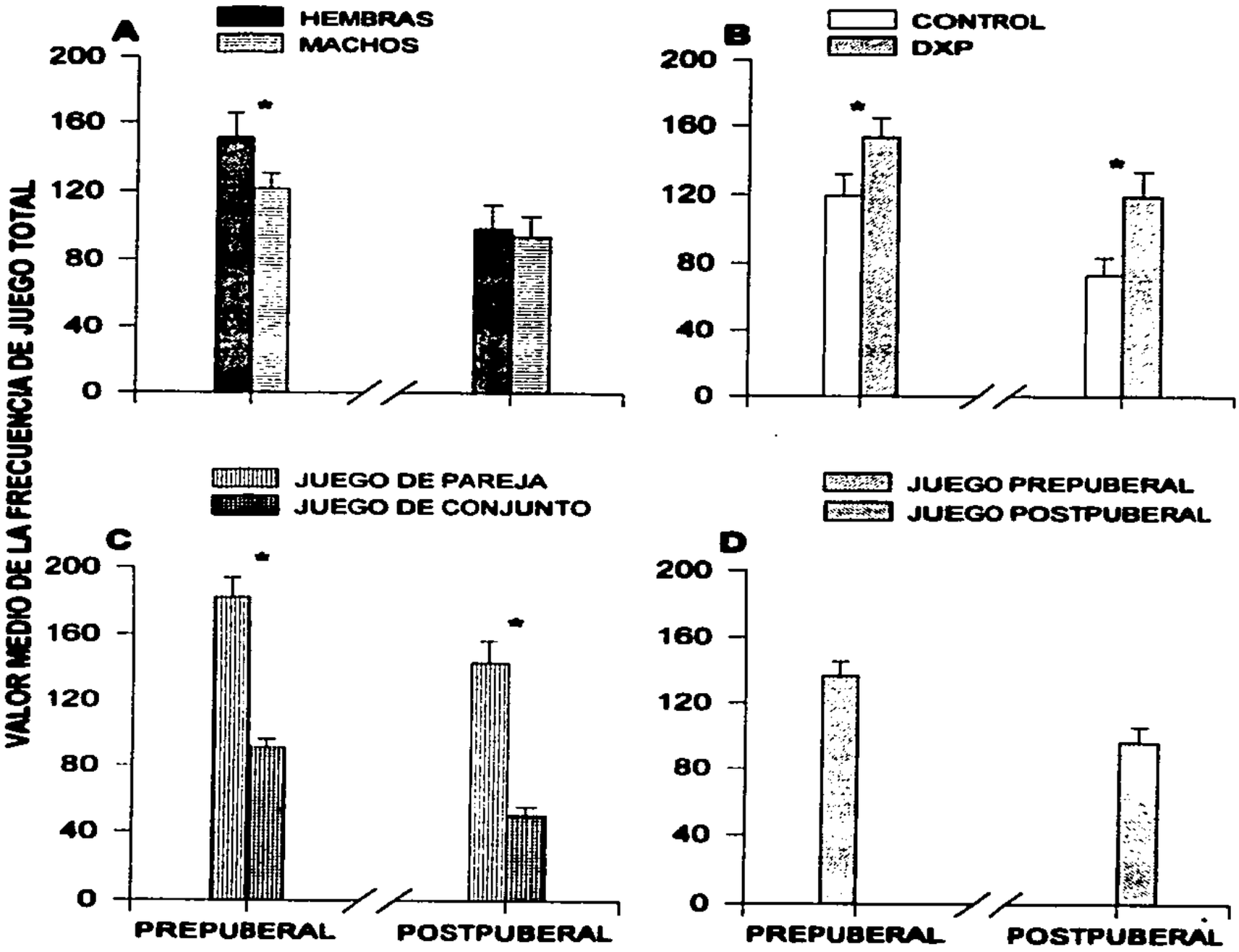

FIGURA 13. Valor medio de la frecuencia de juego total prepuberal y postpuberal cuando se comparan las diferencias entre los sexos (A), la condición nutricional (B), el tipo de juego (C) y el total de los parámetros mencionados (D) durante el periodo prepuberal y el postpuberal. Los asteriscos señalan diferencias significativas $p<0.05$ en las comparaciones. Pruebas de Tukey.

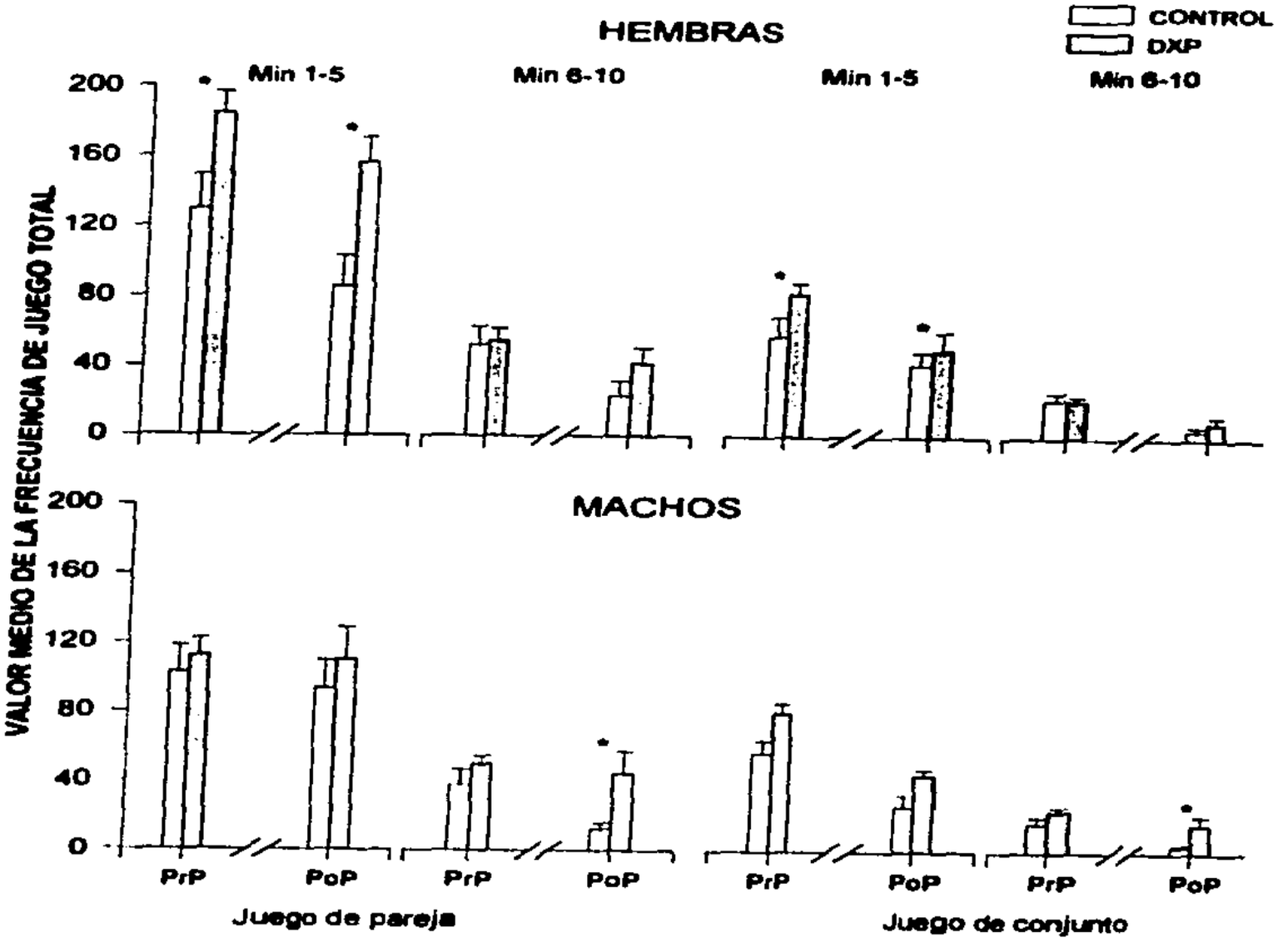

FIGURA 14. Valor medio de la frecuencia de juego total de ratas hembras y machos controles y desnutridas (DXP), durante el juego de pareja y de conjunto, durante los primeros 5 minutos y los últimos 5 minutos de cada sesión y separando el juego ocurrido durante el periodo prepuberal (PrP) del postpuberal (PoP). Los asteriscos indican las comparaciones en las que se obtuvo diferencias significativas ($p<0.05$). Pruebas de Tukey.

Efectos sobre el desarrollo de los contactos físicos durante el juego

Como ya se había mencionado en la metodología los contactos en el dorso, flancos, tren posterior y nuca se registraron durante los intervalos de tiempo donde no se presentaban los parámetros conductuales del juego. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1. En general éstos muestran que con respecto al sexo, los contactos en el dorso se presentan significativamente (asteriscos) con mayor frecuencia ($p<0.0001$) en las hembras. Tomando en cuenta la condición nutricional, los contactos en la nuca se dan significativamente con mayor frecuencia ($p<0.003$) en los animales controles. Para el tipo de contactos (contactos en pareja o en conjunto) en las 4 regiones consideradas se presentan significativamente con más frecuencia ($p<0.0001$) cuando interactúan en parejas. En cuanto al factor edad los contactos se presentaron significativamente con mayor frecuencia ($p<0.0001$) durante los 40, 50 y 60 días de edad en todas las regiones consideradas.

TABLA 1. Comparación estadística (ANOVA) con respecto a los contactos en las 4 regiones del cuerpo en relación al sexo, condición nutricional, tipo de contactos y edad.

		DORSO	FLANCOS	TREN POSTERIOR	NUCA
SEXO	gl	(1,375)	(1,375)	(1,375)	(1,375)
	F	14.006	1.921	0.002	0.745
	P	0.0001*	0.167	0.964	0.389
CONDICION NUTRICIONAL	gl	(1,375)	(1,375)	(1,375)	(1,375)
	F	1.270	0.443	2.838	9.129
	P	0.261	0.506	0.093	0.003*
TIPO DE CONTACTOS (pareja o conjunto)	gl	(1,375)	(1,375)	(1,375)	(1,375)
	F	805.744	317.695	269.466	350.23
	P	0.0001*	0.0001*	0.0001*	0.0001*

DISCUSION

DISCUSION

Los hallazgos del presente estudio indican que el desarrollo físico de los animales desnutridos durante el periodo neonatal, muestran un notable retardo comparado con el de sus controles correspondientes. En efecto los animales del grupo desnutrido, tuvieron a partir de la primera semana de edad un descenso significativo y consistente en el peso corporal, reducción en la talla y retardo en la apertura de los canales sensoriales auditivo y visual. Estas alteraciones son congruentes con los resultados obtenidos de diversos estudios en los que empleando el mismo modelo de desnutrición experimental (Mourek y col., 1967; Salas y col., 1991; Escobar y Salas, 1995) o bien otros modelos diferentes en los que se ha reducido la ingesta de proteínas a la madre gestante (Massaro y col., 1977; Morgane y col., 1993; Díaz-Cintra y col., 1991), o bien limitando la ingesta de leche por parte de las crías al ligar los conductos galactóforos de una de un par de madres lactantes (Lynch, 1976; Salas y col., 1984), también se han encontrado efectos similares en cuanto al retardo en el desarrollo físico.

Por otra parte los hallazgos en el deterioro del desarrollo físico aquí obtenidos, indican que el método utilizado para producir desnutrición, fue de gran efectividad para limitar el crecimiento corporal y la maduración de los canales sensoriales. Consecuentemente que el procedimiento experimental puede ser de

gran utilidad en la evaluación de la participación del peso corporal, la talla y de la interferencia en la maduración sensorial sobre el desarrollo de la conducta de juego de la rata.

Uno de los aspectos más importantes derivado del presente estudio, concierne al hallazgo de que los animales desnutridos de ambos sexos, presentaron un incremento significativo en la frecuencia de la lucha y el encimamiento a lo largo de los días del estudio con respecto a sus controles. Este incremento en los distintos componentes del juego pudiera tener varias expticaciones. Una primera posibilidad podría estar relacionada con el retardo en el desarrollo de los sistemas sensoriales. En efecto en el presente estudio se encontró que los animales desnutridos, presentaron un retardo de varios días en la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados. Estos retardos en la maduración sensorial, pudieran haber provocado una interferencia en el desarrollo neuronal en varias estaciones de relevo de las vías aferentes mencionadas, limitando o bien modificando su organización citoarquitectónica. Estas alteraciones modificarían las características de las descargas de impulsos nerviosos y su organización espacio temporal ascendente, que determinarían así una modificación en el propio crecimiento neuronal y en su capacidad integrativa. Esta posibilidad se fortalece tomando en cuenta los hallazgos de estudios previos que indican que en la rata la desnutrición neonatal, deteriora el desarrollo de la vía auditiva. En efecto, se sabe que el retardo de 2 días en la apertura de los conductos auditivos externos, va acompañado de un desarreglo en la

citoarquitectura de los árboles dendríticos de las neuronas del núcleo medial de la oliva superior, que relevan información de los núcleos cocleares y la transmiten hacia centros supraespinales como el núcleo dorsal del lemnisco lateral y el cuerpo geniculado medial (Salas y col., 1994). Asimismo, hallazgos más recientes (en preparación), han mostrado que también ocurre una reducción del número de las dendritas de distintos ordenes y de su extensión, en las neuronas de los núcleos lateral de la oliva superior y del ventral del cuerpo trapezoide, que descargan vía de sus axones (bandeletas olivococlearas directa y cruzada) sobre la base de las células pilosas de la cóclea. Estas últimas alteraciones sugieren que en los animales desnutridos, podría existir una reducción en la modulación de las señales nerviosas a las distintas frecuencias e intensidades del sonido, con el consiguiente desajuste de los procesos integrativos neurales a nivel de los primeros relevos de la vía auditiva (Torrero y col., 1996).

En el mismo sentido de los hallazgos aquí descritos se ha encontrado que en las vías visual y olfatoria, la privación neonatal de alimento, también altera la transmisión de las señales aferentes correspondientes, ya que las respuestas eléctricas provocadas en el área visual de la neocorteza y en el bulbo olfatorio, son de larga latencia y tienen un carácter repetitivo de varios cientos de milisegundos más, que en el caso de las respuestas de los animales normales (Callison y Spencer, 1968; Salas y col., 1977; Math y Davrainville, 1980).

La desnutrición neonatal también retarda el desarrollo del canal somatosensorial. En este sentido se ha descrito que la estimulación eléctrica del nervio ciático, provoca potenciales alterados en el área somatosensorial de la neocorteza que son de latencia prolongada, de baja amplitud, y que no van seguidos consistentemente de respuestas provocadas secundarias de carácter repetitivo (Salas y Cintra, 1973). Paralelamente, estas alteraciones electrofisiológicas, van acompañadas de reducciones significativas en el grosor y la amplitud de las dendritas y en el número de espinas de las neuronas piramidales grandes de la IV y la V capas de la corteza somestésica, que participan en la recepción e integración de las señales nerviosas provenientes de los sensores periféricos (Salas y col., 1974). Estas alteraciones también concurren con reducciones en la mielinización y en el calibre de las fibras del nervio ciático (Sima, 1974), que seguramente alteran la transmisión de impulsos nerviosos hacia los centros cerebrales superiores.

Todas estas alteraciones en el desarrollo de la esfera sensorial producidas por la desnutrición neonatal, similar a la que se empleó en este estudio, permiten suponer que pudieran haber repercutido en el desarrollo de la conducta de juego en particular, y de la conducta social en lo general. En efecto la etapa del desarrollo cerebral en la que ocurrió la deficiencia sensorial, corresponde a lo que se ha dado en denominar como el período crítico (Dobbing, 1972), que implica que las variables desnutrición y privación sensorial, se potencien para ejercer una poderosa influencia negativa que trastorna el

establecimiento de eventos citogenéticos a nivel de los diferentes relevos de las vías sensoriales mencionadas en los sujetos desnutridos. En este sentido, estudios previos de nuestro grupo han mostrado que los núcleos celulares talámicos inespecíficos que manejan información polisensorial (Lindsley, 1970), sufren mayores daños en su organización citoarquitectónica por la desnutrición neonatal, que los correspondientes a los núcleos neurales específicos que transmiten e integran información sensorial de conducción rápida y de una sola modalidad (Salas y Torrero., 1980; Pérez-Herrera y Salas, 1988).

En relación a la posibilidad de interferencia en la maduración sensorial provocada por la desnutrición neonatal y su acción sobre el desarrollo del juego, diversos estudios han establecido que durante el periodo postnatal, los diversos canales sensoriales van entrando en operación de una manera gradual y ordenada de acuerdo a la expresión del programa genéticamente establecido. En efecto se conoce que las distintas modalidades sensoriales inician su actividad con la entrada en funcionamiento de la sensibilidad somestésica (Purpura,1962; Salas y Cintra., 1973), seguida de la olfatoria (Schapiro y Salas, 1970; Salas y col., 1970), después de la gustativa (Ganchrow y col., 1986; Kehoe y Blass, 1985) enseguida de la acústica y vestibular (Salas y Schapiro, 1970; Carlier y Pujol, 1982) y finalmente de la sensibilidad visual (Rose y Lindsley, 1968; Salas y Schapiro, 1970). En el caso de especies precociales como las aves, o de las altriciales como los roedores, se ha sugerido que la inauguración funcional de los canales sensoriales visual y olfatorio, juega un papel fundamental para el

reconocimiento y el seguimiento de las crías hacia sus congéneres (Lorenz, 1935; Schapiro y Salas, 1970). En las primeras horas que siguen al nacimiento este reconocimiento temprano es capital para la sobrevida de las crías en la naturaleza, que les permite identificar a la madre, al ambiente y a otros miembros de la especie, y se ha definido como el fenómeno de la impronta en las aves, y como el periodo de socialización primaria en los roedores (Scott, 1968). La entrada gradual y ordenada en la función de los distintos sistemas sensoriales, se sabe que genera señales cerebrales de gran significación para el establecimiento de la relación entre la madre y su cría, y entre las diferentes crías y el medio ambiente. Estos lazos de interacción cuando la actividad de movimiento en las crías es rudimentaria, pudieran ser de gran utilidad para satisfacer funciones primitivas como la protección y la ingesta de alimento. En cambio cuando las crías adquieren mayor control y coordinación de sus movimientos, se fortalecen y generan grandes interacciones entre ellas, que son esenciales para el establecimiento de la conducta social entre los congéneres de una especie determinada o bien de otras. En los hallazgos aquí mencionados, se pudo identificar que tanto la privación de alimento como la restricción sensorial que implícitamente acompaña al método de desnutrición empleado, provocó retrasó de la maduración de los canales auditivo y visual y por lo tanto, pudo provocar una interferencia en el proceso del reconocimiento materno y medioambiental que interfirió con el desarrollo de mecanismos moduladores del control locomotor, y consecuentemente provocó el incremento de la conducta de juego en el grupo desnutrido. En efecto, el incremento de los parámetros del juego, pudiera tener

una explicación en el deterioro en el desarrollo de los mecanismos cerebrales moduladores del movimiento, que se ha descrito para la conducta de autoaseo (Massaro y col., 1977; Salas y col., 1991) y la locomoción (Clarke y col., 1992; Gramsbergen y Westerga, 1992). Asimismo, en el control de la actividad eléctrica provocada en el bulbo olfatorio por la estimulación del nervio olfatorio (Salas y col., 1969; Math y Davrainville, 1980) y de la corteza cerebral por la aplicación de estímulos sensoriales (Salas y col., 1977), desencadenada por la desnutrición perinatal en la rata.

Es de suponerse que una buena parte de las alteraciones en el desarrollo de la conducta de juego provocadas por la desnutrición neonatal en la rata, pudieran ser el resultado de la interferencia en el establecimiento de la interacción social dependiente de actividad polisensorial temprana, que en esta etapa del desarrollo muestra una gran vulnerabilidad a diferentes influencias perinatales (Salas y col., 1994; Escobar y Salas, 1995). Dado que la conducta de juego en la rata se da esencialmente en el juego de pareja y escasamente en el de conjunto, por lo tanto pudiera ser que la interacción social neonatal fuese más importante para el reconocimiento materno y de otros congéneres que es fundamental para la sobrevida de los recién nacidos en la naturaleza.

Aunque del estudio de la conducta de juego que se realizó, no es posible definir que tanto la desnutrición neonatal afectó el establecimiento del proceso de socialización en la rata, el cual se sabe depende del desarrollo

sensorial de las crías, de la interacción con la madre y los miembros de la camada y del desarrollo de procesos cerebrales de gran plasticidad como la percepción y el aprendizaje (Scott, 1968). Sin embargo, estudios previos de nuestro grupo son congruentes con la idea de que la desnutrición neonatal, puede interferir con la expresión de la conducta social en el estado adulto. En este sentido se sabe que la expresión de los distintos componentes de la conducta maternal como la construcción del nido, el tiempo de amamantamiento y el acarreo de las crías recién nacidas, es significativamente deficiente en las ratas que fueron desnutridas durante el periodo neonatal, con respecto a sus testigos (Salas y col., 1984; Salas y col., 1987). Asimismo, que durante la exposición a un campo abierto las ratas adultas que fueron desnutridas durante el periodo neonatal, se muestran tímidas, exploran poco y realizan escasos contactos físicos con otros sujetos, o bien con objetos colocados en el centro del campo en comparación con sus controles (Franková, 1972; Salas y Cintra, 1979).

Una posibilidad más que podría explicar el aumento significativo en el patrón conductual de juego de los animales desnutridos, y en particular el incremento mayor de éste en el caso de las hembras, concierne al papel fundamental que tiene la desnutrición como agente estresante durante etapas tempranas del desarrollo. De diversos estudios se conoce que la rata recién nacida, presenta de manera natural una escasa respuesta ante estímulos estresantes (Schapiro, 1968). Se ha establecido que las crías machos de ratas gestantes cuando son estresadas hacia la última semana del embarazo al

colocarlas en espacios reducidos en tamaño, o al exponerlas a bajas temperaturas por periodos cortos durante el día, expresan después del día 20 de edad, un patrón conductual de juego de tipo "feminizado" en comparación a los machos provenientes de madres gestantes no estresadas (Ward y Stehm, 1991). Aunque la desnutrición neonatal aquí empleada no comprendió la etapa prenatal, sin embargo, si puede afirmarse que al establecerse neonatalmente tanto en las crías macho como hembra, ésto pudo haber interferido con el desarrollo del mecanismo límbico estriado que regula el patrón conductual de juego. Particularmente con la maduración neural del área septal (Beatty y col., 1982), o con el desarrollo del bulbo olfatorio (Beatty y Costello, 1983) que cuando son lesionados por medios físicos, son capaces de incrementar la iniciación y la frecuencia de la conducta de juego. Esta posibilidad encuentra apoyo en experiencias previas que muestran que la rata desnutrida neonatalmente, se comporta en forma hiperemotiva en el largo plazo (Cowley y Griesel, 1963). Ante estímulos estresantes o novedosos se congela fácilmente en una sola posición, orina y defeca en exceso y tarda mayor tiempo en salir hacia la parte central de un campo abierto (Cowley y Griesel, 1963; Frankovà, 1972; Salas y Cintra, 1979). Por otra parte también se conoce que cuando a las ratas que fueron desnutridas durante el periodo perinatal, se les expone a un ambiente estresante, incrementan sus niveles de corticoides y noradrenalina plasmáticos (Stern y col., 1974). Estudios de tipo morfométrico realizados en la amígdala temporal durante el desarrollo, han mostrado un severo daño producido por la desnutrición a nivel de los árboles dendríticos de las neuronas tomadas de los núcleos central y

basolateral de la amígdala (Escobar y Salas, 1993), o de neuronas que se conectan con ella como es el caso del claustrum (Escobar y Salas, 1995). Estos hallazgos, han permitido proveer la base estructural para el mejor entendimiento de la hiperemotividad que se observa en el individuo desnutrido. Tomando en cuenta estos resultados, podría sugerirse que la desnutrición neonatal pudo haber interferido con el desarrollo del mecanismo neural que gobierna la conducta de juego, a través posiblemente de un doble mecanismo. Por un lado "feminizando" el juego de los machos y potenciando quizás la mayor frecuencia en el juego por parte de las hembras como se observó en nuestros resultados; por otra parte, interfiriendo con el desarrollo del mecanismo neural que modula la conducta de juego, con lo cual los distintos componentes de éste se incrementarían en los sujetos desnutridos. En este sentido nuestro grupo de trabajo ha sugerido una acción similar a esta última posibilidad, a propósito del desarrollo de la conducta de autoaseo que también se incrementa consistentemente en los animales desnutridos (Salas y col., 1991), como en el caso de la conducta de juego. Otra posibilidad que podría explicar el incremento significativo de la conducta de juego en las ratas hembras, es el tamaño de la jaula en la que se encuentran los animales, ya que se ha descrito que cuando el tamaño de la jaula es grande los machos juegan más con respecto a las hembras, y cuando la jaula es pequeña ocurre lo contrario, es decir las hembras juegan más que los machos (Klinger y Kemble, 1985). Los presentes hallazgos son congruentes con esta última condición, debido a que el tamaño de la jaula que utilizamos es muy similar a la

que estos autores denoniman como jaula pequeña, con lo cual corroboramos dichos resultados.

Una influencia importante para el desarrollo de la conducta de juego en las especies altriciales como es el caso de la rata, es sin duda alguna el microambiente endocrinológico cambiante que acompaña a las neuronas en crecimiento (Schapiro, 1968). La simple observación en el desarrollo de la conducta de juego muestra que el pico máximo de la curva que describe el curso temporal de este fenómeno, antecede a los eventos que acompañan a la pubertad como son la apertura vaginal, el descenso testicular, el inicio de la actividad del ciclo estral y los cambios ováricos, uterinos y vaginales asociados. El descenso en la frecuencia de la conducta de juego llega a sus valores menores alrededor del día 60, después del cual es raro que los animales jueguen. Este curso temporal del juego sugiere que el incremento en la secreción y niveles de hormonas gonadales, pudiera inhibir la expresión de esta conducta. Sin embargo, esta correlación ha sido motivo de gran discusión, ya que algunos estudios concluyen que la gonadectomía en la primera semana de edad, reduce la frecuencia de juego con respecto a sus controles. En cambio cuando ésta se realiza en el día 10 no provoca ninguna alteración (Beatty y col., 1981; Meaney y Stewart, 1981b). En cambio la administración de andrógenos, en las hembras, incrementa el juego al nivel del de los machos (Meaney y Stewart, 1981b).

En relación con los efectos de la desnutrición neonatal y el desarrollo del sistema endocrinológico, se sabe que dada la notable inmadurez del sistema endocrinológico en el momento del nacimiento (Schapiro, 1968; Salas y Schapiro, 1970; Dussault y Labrie, 1975; Salas y col., 1977), la privación aguda de nutrimentos, reduce el número y el tamaño de los gonadotropos hipofisiarios y la liberación de gonadotrofinas con el consiguiente retardo en la maduración gonadal. Diversos estudios de malnutrición neonatal en la rata, indican que bajo esta influencia existe un retardo en la apertura vaginal, en la aparición del primer estro, atrofia ovárica y testicular y reducción en la tasa de espermatozoides en el semen (Kennedy y Mitra, 1963; Larsson y col., 1974). En su conjunto estos hallazgos que apoyan la presencia de un retardo en la maduración gonadal, pudieran quizás relacionarse con el exceso del juego que presentan los animales desnutridos y en particular las hembras, aunque en el presente estudio no se hizo una evaluación del desarrollo gonadal. Sin embargo, será necesario disponer de mayor información que permita correlacionar de una manera adecuada los trastornos endocrinológicos que acompañan a la desnutrición neonatal (Herbert y col., 1993) con el incremento en los parámetros del juego que aquí se han encontrado.

Otro aspecto importante relacionado con la expresión de la conducta de juego, se refiere al papel que tiene el peso corporal en esta respuesta. En este sentido los hallazgos derivados del estudio, muestran con claridad que los sujetos del grupo desnutrido y las hembras, invariablemente pesan menos que los

animales control y los machos respectivamente. Asimismo, los sujetos desnutridos y las hembras juegan más en cada sesión y también a lo largo del desarrollo. Estos resultados apoyan la idea de que la baja de peso corporal usualmente asociada a una menor talla, hace que los sujetos sean más ágiles y escurridizos para los fines de la habilidad en el juego. Aunque en la literatura se consignen resultados contradictorios, o bien en ocasiones se descarta que el peso corporal sea un factor importante para la actividad de jugar (Panksepp, 1981). A pesar de que nuestros hallazgos favorecen una de las posiciones con respecto a la correlación entre el peso corporal y la frecuencia del juego, se debe ser cauto al respecto, dado que la manifestación de esta actividad es multifactorial, y se encuentra modulada en la rata por factores motivacionales, perceptuales, sociales, neuroendócrinos, etc., que pudieran en un momento dado tener mayor relevancia para la regulación de la expresión del juego que el propio peso corporal.

En el presente es poco lo que se conoce acerca de los tipos de contactos corporales ocurridos durante la conducta de juego y de otras actividades sociales entre los miembros de una misma especie. En la rata el análisis de la frecuencia de los contactos corporales, se ha estudiado particularmente durante el acarreo de las crías recién nacidas hacia el nido por parte de la madre, y los contactos que se dan durante la exploración hacia ambientes novedosos. Así, se ha establecido que las madres que fueron desnutridas durante el periodo neonatal, acarrean a sus crías con latencias más

largas, tomándolas por el dorso, la pelvis, la cabeza o las extremidades y pocas veces por la región de la nuca, que es el sitio preferido habitualmente por las madres normales (Salas y col., 1984). Por otra parte durante la exploración hacia el ambiente los sujetos desnutridos, tienen menos contactos corporales con sus congéneres y con los objetos cercanos comparados con los animales testigos (Franková, 1972). En los hallazgos obtenidos durante los intervalos de la actividad de juego, la predominancia de los contactos de las hembras desnutridas dirigidos hacia el dorso del cuerpo, comparado con los machos pudiera reflejar una tendencia de las hembras para tomar contacto y prender a sus congéneres por el dorso y no por la nuca, como sería el caso de la tendencia de los machos y las hembras normales, para sujetar a sus congéneres o a sus presas por esta misma región. El hecho de que en la mayoría de los sujetos desnutridos exista un predominio para realizar contactos en la región del dorso y no en la nuca, podría estar en consonancia con la existencia de un trastorno perceptual y/o como resultado de la hiperemotividad que caracteriza a los sujetos desnutridos. En efecto, estudios previos muestran que las ratas desnutridas durante el periodo neonatal, pueden manifestar trastornos para el reconocimiento en el acarreo de las crías (Salas y col., 1984) y en el control de la respuesta emocional que pudiera generar imprecisiones en el movimiento para el contacto corporal (Cowley y Griesel, 1963; Franková, 1972; Salas y Cintra., 1979).

Los hallazgos del presente estudio también mostraron que a lo largo del desarrollo, la frecuencia en los contactos corporales se va incrementando

gradualmente conforme la actividad de movimiento se va haciendo más coordinada y refinada, siendo por lo tanto este parámetro un reflejo de la maduración cerebral. En este sentido, los hallazgos son congruentes con estudios previos que indican que el desarrollo de otras actividades de movimiento como es el reflejo de enderezamiento (Altman y col., 1971), de nado (Schapiro y col., 1970; Salas, 1972), del autoaseo (Richmond y Sachs, 1980; Salas y col., 1991) también muestran un gradual refinamiento en su expresión con la edad.

Los resultados presentados también muestran que en los intervalos entre los parámetros de juego, la frecuencia de los contactos corporales es mayor entre las parejas de animales, que cuando éstos se miden durante el conjunto de los 4 animales a lo largo de las sesiones de registro del juego. La posibilidad de que el número de contactos sea mayor entre el grupo de 4 animales que entre parejas, parecería ser una conclusión lógica, sin embargo, los resultados obtenidos indican que se da una situación contraria. Este hallazgo sugiere que los contactos corporales ocurridos durante los parámetros entre el juego, pudieran tener una intencionalidad entre los miembros de una pareja y poco carácter espontáneo o no intencional, teniéndose lo opuesto durante la interacción en grupo en los cuales la espontaneidad, predominaría sobre la intencionalidad de los contactos corporales. Este carácter de intencionalidad parece definirse para el caso de los contactos dirigidos a la región del dorso y del tren posterior durante el periodo postpuberal, posiblemente en relación con los contactos que ocurren relacionados con eventos cíclicos de tipo endocrinológico ligados a la función

reproductora en ambos sexos (Ojeda y col., 1983). Sin embargo serán necesarias pruebas adicionales en el estudio de los contactos corporales durante el juego, definiendo estados endocrinológicos y conductuales extremos como la gonadectomía y los tratamientos con hormonas sexuales, en los que se predisponga a los animales receptores o a los emisores de contactos corporales, a responder ante condiciones medioambientales específicas y extremas.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1.- La desnutrición neonatal en la rata provocó un retardo en el desarrollo físico, el cual se reflejó en la reducción del peso corporal, en la talla, así como en el retraso de la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados.

2.- El desarrollo de la conducta de juego en la rata, sigue el curso temporal de una curva en forma de una U invertida, con su valor máximo alrededor del día 30 postnatal, siendo la lucha y el encimamiento más frecuentes que el boxeo.

3.- En general los distintos componentes de la conducta de juego, se presentan con mayor frecuencia en las hembras, en los animales desnutridos y en el juego de pareja.

4.- La frecuencia de los componentes de esta conducta durante los primeros 5 minutos de cada sesión de registro del juego, es significativamente mayor con respecto a los segundos 5 minutos del registro. Este efecto también se observa en los tipos de juego y con el incremento en edad de los animales.

5.- La conducta de juego total se da con más frecuencia durante la etapa prepuberal que en la postpuberal. Esta caracteristica sugiere que

probablemente los cambios endocrinológicos que definen el inicio de la vida sexual activa, contribuyen a su modulación.

6.- Entre los accesos del juego, los contactos en el dorso son significativamente diferentes con respecto al sexo y, en la nuca con respecto a la condición nutricional . En las hembras hay más contactos en dicha región del cuerpo que en los machos, y los contactos en la nuca son más frecuentes en los animales controles. Los contactos en el dorso, flancos, tren posterior y nuca son significativamente diferentes con respecto al tipo de contactos (de pareja o de conjunto) y a la edad.

7.- La desnutrición neonatal y el retardo en la maduración sensorial asociada, posiblemente interfirieron en el desarrollo de los mecanismos moduladores cerebrales de los distintos componentes de la conducta de juego de la rata.

8.- La conducta de juego posiblemente promueva el crecimiento cerebral y corporal, y a través de la misma probablemente se generen las bases funcionales de la conducta social.

PERSPECTIVAS

PERSPECTIVAS

Tomando en consideración que el estudio de la conducta de juego en el modelo de la rata desnutrida en desarrollo, ofrece numerosas ventajas para el análisis de los factores que promueven, mantienen y posteriormente inhiben el juego durante la ontogenia, el trabajo que aquí se presenta pudiera entre otras posibilidades continuarse de la siguiente forma:

1.- Teniendo en cuenta el antecedente de que la estimulación sensorial en la rata desnutrida durante el periodo neonatal, puede revertir o atenuar parcialmente las alteraciones en algunas conductas motoras como lo es el caso de las conducta exploratoria y conductas más complicadas como la conducta maternal. Asimismo, considerando que el método de desnutrición empleado también priva a las crías de estímulos sensoriales provenientes de la madre, de las propias crías en la misma camada y del medio ambiente. Una propuesta factible, sería indagar la importancia de la estimulación sensorial en el desarrollo de la conducta de juego en ratas desnutridas en la etapa neonatal, empleando este mismo método de desnutrición más estimulación sensorial, o bien utilizando otro paradigma de desnutrición en el que se minimice o no se prive de estimulación sensorial a las crías.

2.- Si se considera que el proceso de socialización en la rata depende del desarrollo de los sistemas sensoriales, se podría indagar la contribución de

cada una de las modalidades sensoriales para el desarrollo de la conducta de juego, bloqueando separadamente el canal olfatorio, auditivo o el visual. Es posible que este tipo de estudios, nos permitiera valorar la participación de los sistemas sensoriales en cuanto al establecimiento de la relación madre cría y el medio ambiente durante el desarrollo, y por lo tanto del establecimiento futuro de la conducta social.

3.- En la etapa adulta de la rata y mediante un estudio conductual, podría analizarse la conducta sexual de la rata desnutrida neonatalmente que juega con actividad feminizada, y analizar sus consecuencias en la reproducción mediante un estudio de fertilidad. Así podría comprobarse que efectivamente, el individuo requiere de experiencia social temprana del tipo de juego, para la ejecución adecuada de sus conductas durante la adultez.

4.- Se ha establecido que el dimorfismo sexual en la conducta de juego de la rata, está determinado por varios factores pero sobre todo por la presencia de andrógenos. En este trabajo se encontró que las hembras juegan más que los machos, este hallazgo podría continuarse administrando andrógenos a las hembras y estrógenos a los machos en distintas concentraciones, para analizar la participación del factor hormonal sobre el dimorfismo en el juego.

5.- El estudio de la conducta de juego en la rata, podría complementarse con un estudio morfométrico de neuronas de aquellas

estructuras cerebrales involucradas en la regulación de dicha conducta. El estudio podría cuantificar el daño neural ocurrido a nivel de los árboles dendríticos, del soma neuronal y de las proyecciones de los axones hacia sus órganos blanco.

REFERENCIAS

REFERENCIAS

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

Anokhin, P.K. (1964): Systemogenesis as a general regulator of brain development. En: Himwich, W.A. & Himwich, H.E. (Eds.). **The Developing Brain. Progr. Brain Res., 9**: 54-86.

Attenborough, D. (1980): "Life on earth" A natural history. **The Reader's Digest,** Ass. Lim. & W. Collins & BBC. pp. 368.

Baenninger, L.P. (1967): Comparison of behavioural development in socially isolated and grouped rats. **Anim. Behav., 15**: 312-323.

Beatty, W.W., Dodge, A.M., Traylor, K.L. y Meaney, M.J. (1981): Temporal boundary of the sensitive period for hormonal organization of social play in juvenile rats. **Physiol. Behav., 26**: 241-243.

Beatty, W.W., Dodge, A., Traylor, K., Donegan, J. y Godding, P. (1982): Septal lesions increase play fighting in juvenile rats. **Physiol. Behav., 28**: 649-652.

Beatty, W.W. y Costello, K.B. (1983): Olfactory bulbectomy and play fighting in juvenile rats. **Physiol. Behav., 30**: 525-528.

Bekoff, M. (1972): The development of social interaction, play, and metacommunication in mammals: An ethological perspective. **Quart. Rev. Biol., 47**: 412-434.

Bennett, E.L., Diamond, M.C., Krech, D. y Rosenzweig, M. (1964): Chemical and anatomical plasticity of brain. **Science, 146**: 610-619.

Bernstein, L. (1952): A note on Christie's "Experimental naivité and experiential naivite". **Psychol. Bull., 49**: 38-40.

Bolles. R.C. y Woods. P.J. (1964): The ontogeny of behavior in the albino rat. **Anim. Behav., 12**: 427-441.

Burghardt, G.M. (1988): Precocity, play, and the ectotherm-endotherm transition. En: Elliot M.Blas (Ed.). **Developmental Psychobiology and Behavioral Ecology**. Vol. 9. Handbook of Behavioral. Plenum Press New York, pp. 107-148.

Callison, D.A. y Spencer, J.W. (1968): Effect of chronic undernutrition and/or visual deprivation upon the visual evoked potentials from the developing rat brain. **Dev. Psychobiol., 1**: 196-204.

Carlier, E. y Pujol, R. (1982): Sectioning the efferent bundle decreases cochlear frequency selectivity. **Neurosci. Letters, 28**: 101-106.

Carrillo, P., Manzo, J., Martinez-Gomez, M., Salas, M. y Pacheco, P. (1994): Neonatal capsaicin administration: Effects on behavioral development of the rat. **Pharmacol. Biochem. Behav., 48**: 447-452.

Cintra, L. y Díaz-Cintra, S. (1985): Efecto de la desnutrición proteínica en los núcleos rafe dorsal, *locus coeruleus* y en las células no piramidales de la corteza visual de la rata. **Rev. Chil. Nutr., 13**: 76-82.

Clarke, K., Parker, J. y Smart, J.L. (1992): Analysis of walking locomotion in adult female rats undernourished as suckling. **Physiol. Behav., 52**: 823-826.

Chasin, R., Perlman, M. y Sohmer, H. (1979): Cochlear and brain stem responses in hearing loss following neonatal hyperbilirrubinemia. **Ann. Otol., 88**: 352-357.

Cowley, J.L. y Griesel, R.D. (1963): Development of second generation low protein rats. **J. Genet. Psychol., 103**: 233-242.

Denenberg, V.H. y Morton, J. (1962): Effects of preweaning and postweaning manipulations upon problem solving behavior. **J. Comp. Physiol. Psychol., 55**: 1096-1098.

Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Galvan, 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., 131**: 356-364.

Dobbing, J. (1972): Vulnerable period of brain development. En: **Lipids, malnutrition and the developing brain**. Elsevier Excerpta Medica North Holland, Amsterdam, 9-29.

Dussault, J. H. y Labrie, F. (1975): Development of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the neonatal rat. **Endocrinol., 97**: 1321-1324.

Eayrs, J.T. y Taylor, S.H. (1951): The effect of thyroid deficiency induced by methylthiouracil on the maturation of the central nervous system. **J. Anat. Lond., 85**: 350-358.

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. Méd. Biol. Méx., 35**: 195-202.

Escobar, C. y Salas, M. (1988): Desarrollo del juego en ratas neonatalmente desnutridas. Memorias del XXXI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Querétaro, Qro. México. C. 114.

Escobar, C. y Salas, M. (1993): Neonatal undernutrition and amygdaloid nuclear complex development: An experimental study in the rat. **Exp. Neurol., 122**: 311-318.

Escobar, C. y Salas, M. (1995): Dendritic branching of claustral neurons in neonatally undernourished rats. **Biol. Neonat., 68**: 47-54.

Fagen, R. (1981): Animal play behavior. Oxford University Press. New York.

Franková, S. (1972): Effect of early dietary and sensoric reduction on behavior of adult rats. **Activ. Nerv. Sup. (Praha) 14**: 1-7.

Ganchrow, J.R., Steiner, J.E. y Canetto, S. (1986): Behavioral displays to gustatory stimuli in newborn rat pups. **Dev. Psychobiol., 19**: 163-174.

Gramsbergen, A. y Westerga, J. (1992): Locomotor development in undernourished rats. **Behav. Brain Res., 48**: 57-64.

Harper, R.G., Kohn, E.I., Sia, C.G., Horn, D., Villi, R. y Hessel, Ch. A. (1986): Patterns of bilirrubin staining in nonhemolytic Kernicterus. **Arch. Pathol. Lab. Med., 110**: 614-617.

Hebb, D.O. (1949): The organization of behavior. J. Wiley. New York.

Herbert, D.C., Yashiro, T., Muraki, T., Okano, T., Hattori, A. y Suzuki, T. (1993): Quantitative morphological analysis of the pituitary gland in protein-caloric malnourished rats. **Anat. Rec., 235**: 121-125.

Jacobson, M. (1991): Developmental neurobiology. Plenum Press. N.Y. 776.

Karfunkel, P. (1974): The mechanism of neural tube formation. **Int. Rev. Cytol., 38**: 245-271.

Kehoe, P. y Blass, E.M. (1985): Gustatory determinants of suckling in albino rats 5-20 days of age. **Dev. Psychobiol., 18**: 67-82.

Kennedy, G.C. y Mitra, J. (1963): Body weight and food intake as initiating factors for puberty in the rat. **J. Physiol., 166**: 408-418.

Klinger, H.J. y Kemble, D.E. (1985): Effects of housing space and litter size on play behavior in rats. **Bull. Psychon. Soc., 23**: 75-77.

Larsson, K., Carlsson, S.G., Sourander, P., Forsström, B., Hansen, S., Henriksson, B. y Lindquist, A. (1974): Delayed onset of sexual activity of male rats subjected to pre- and postnatal undernutrition. **Physiol. Behav., 13**: 307-311.

Leah, J., Allardyce, H. y Cummins, R. (1985): Evoked cortical potentials correlates of rearing environment in rats. **Biol. Psychol., 20**: 21-29.

Lehrman, D.S. (1962): Interaction of hormonal and experiential influences on development. En: E. L. Bliss (Ed.), **Roots of behavior**. Hafner Publ. Co., New York, pp. 142-156.

Levine, S. y Mullins, R.F. Jr. (1968): Hormones in infancy. En: Newton, G. y Levine, S. (Eds.). **Early Experience and Behavior**. Ch. C. Thomas. Publ. USA. pp. 168-197.

Levitsky, D.A. y Barnes, R.H. (1972): Nutritional and environmental interactions in the development of the rat: Long-term effects. **Science, 176**: 68-71.

Lindsley, D.B. (1970): The role of nonspecific reticulothalamocortical system in emotion. En: Black P. (Ed.), **Physiological Correlates of Emotion**. **Academic Press**, New York and London. pp.147-188.

Lynch, A. (1976): Postnatal undernutrition: an alternative method. **Dev. Psychobiol., 9**: 39-48.

Lorenzana, J.M. y Salas, M. (1990): Behavioral effects of chronic toluene exposure in the developing rat. **Neurobehav. Neurotoxicol. Teratol., 12**: 353-357.

Lorenz, K. (1935): Der kumpan in der umwelt des Vogels. **J. Ornithol., 83**: 137-213; 289-413.

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.

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

Meaney, H.J. y Stewart, J. (1981a): A descriptive study of social development in the rat (*Rattus norvegicus*). **Anim. Behav., 29**: 34-45.

Meaney H.J. y Stewart J. (1981b): Neonatal androgens influence the social play of prepubescent rats. **Horm. Behav., 15**: 197-213.

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

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

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

Müller-Schwarze, D. (1966): Experimente zur triebspezifität des säugetierspeils. **Naturwissenschaften., 53**: 137-138.

Ojeda, S.R., Aguado, L.I. y Smith, S. (1983): Neuroendocrine mechanisms controlling the onset of female puberty: The rat as a model. **Neuroendocrinol., 37**: 306-313.

Olioff, M. y Stewart, J. (1978): Sex differences in the play behavior of prepubescent rats. **Physiol. Behav., 20**: 113-115.

Orgeur, P. (1995): Sexual play behavior in lambs androgenized in utero. **Physiol. Behav., 57**: 185-187.

Panksepp, J. y Beatty, W.W. (1980): Social deprivation and play in rats. **Behav. Neur. Biol., 30**: 197-206.

Panksepp, J. (1981): The ontogeny of play in rats. **Dev. Psychobiol., 14**: 327-332.

Parnavelas, J.G. (1978): Influence of stimulation on cortical development. En: M. Corner & R. Baker (Eds.). **Maturation of the Nervous System. Progr. Brain Res., 48**: 247-259.

Pascual, R., Fernandez, V., Ruiz, S. y Kuljis, R.O. (1993): Environmental deprivation delays the maturation of motor pyramids during the early postnatal period. **Early. Hum. Dev., 33**: 145-155.

Pellis, S.M., Pellis, V.C. y Whishaw, I.Q. (1992): The role of the cortex in play fighting by rats: Developmental and evolutionary implications. **Brain Behav. Evol., 39**: 270-284.

Pellis, S.M., Castañeda, E., McKenna, M., Tran-Nguyen, T.L. y Whishaw, I.Q. (1993): The role of the striatum in organizing sequences of play fighting in neonatally dopamine-depleted rats. **Neurosci. Letters, 158**: 13-15.

Pellis, S.M. (1994): Sex and the evolution of play fighting: A review and model based on the behavior of muroid rodents. **Play Theory Research, 1**: 55-75.

Peñaloza, L.Y., Poblano, L.A. y Esquinca, C.M.T. (1991): Impacto de la hiperbilirrubinemia neonatal en las funciones cerebrales. En: Salas M. (Ed.), **Ontogenia Neural: Aspectos Comparativos y Mecanismos de Regulación.** SMCF/UNAM. pp. 319-330.

Pérez-Herrera, H. y Salas, M. (1988): Efecto de la desnutrición neonatal sobre el desarrollo de núcleos talámicos específicos e inespecíficos. XXXI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Querétaro, Qro. México. Agosto 14-18.

Poole, T.B. y Fish, J. (1975): An investigation on playful behaviour in Rattus norvegicus and Mus musculus (Mammalia). **J. Zool., 175**: 61-71.

Poole, T.B. y Fish, J. (1976): An investigation of individual, age and sexual differences in the play of *Rattus norvegicus* (Mammalia: Rodentia). **Proc. Zool. Soc. Lond., 179**: 249-260.

Purpura, D.P. (1962): Synaptic organization of immature cerebral cortex. **World Neurol., 3**: 275-293.

Richmond, G. y Sachs, B.G. (1980): Grooming in Norway rats:The development and adult expression of a complex motor pattern. **Behav., 175**: 82-95.

Rose, G.H. y Lindsley, D.B. (1968): Development of visually evoked potentials in kittens: specific and nonspecific responses. **J. Neurophysiol., 31**: 607-623.

Rosenzweig, M.R. y Bennett, E.L. (1972): Cerebral changes in rats exposed individually to an enriched environment. **J. Comp. Physiol. Psychobiol., 80**: 304-313.

Ruiz-Marcos, A., Sánchez-Toscano, F., Obregon, M.J., Escobar del Rey, F. y Morreale de Escobar, G. (1982): Thyroxine treatment and recovery of hypothyroidism induced pyramidal cell damage. **Brain Res., 239**: 559-574.

Salas, M., Guzman-Flores, C. y Schapiro, S. (1969): An ontogenetic study of olfactory bulb electrical activity in the rat. **Physiol. Behav., 4**: 699-703.

Salas, M. y Schapiro, S. (1970): Hormonal influences upon the maturation of the rat brain's responsiveness to sensory stimuli. **Physiol. Behav., 5**: 7-11.

Salas, M., Schapiro, S. y Guzman-Flores, C. (1970): Development of olfactory bulb discrimination between maternal and food odors. **Physiol. Behav., 6**: 1261-1264.

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

Salas, M. y Cintra, L. (1973): Nutritional influences upon somatosensory evoked responses during the development in the rat. **Physiol. Behav., 10**: 1019-1022.

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

Salas. M., Díaz, S. y Cintra, L. (1977): Thyroid and nutritional influences on electrocortical activity development. En: Graves G. (Ed.), **Thyroid Hormones and Brain Development. Raven Press**, New York. pp. 255-269.

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

Salas, M. y Torrero, C. (1980): Morphological impairment of specific and nonspecific thalamic nuclei after early thyroxine treatment and nutritional deprivation in the rat. **Front. Horm. Res., 6**: 70-85.

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., Pulido, S. y Pérez, H. (1987): Alteraciones a largo plazo en la conducta maternal de ratas desnutridas durante el periodo neonatal. **Bol. Estud. Méd. Biol. Méx., 53**: 3-9.

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

Salas, M., Torrero, C., Regalado, M., Martinez-Gomez, M. y Pacheco, P. (1994): Dendritic arbor alterations in the medial superior olivary neurons of neonatally underfed rats. **Acta Anat., 151**: 180-187.

Schapiro, S. (1968): Some physiological, biochemical and behavioral. Consequences of neonatal hormone administration: cortisol and thyroxine. **Gen. Comp. Endocr., 10**: 214-228.

Schapiro, S. y Salas, M. (1970): Behavioral response of infant rats to maternal odor. **Physiol. Behav., 5**: 815-817.

Schapiro, S., Salas, M. y Vukovich, K. (1970): Hormonal effects on ontogeny of swimming ability in the rat. Assessment of central nervous system development. **Science, 168**: 147-151.
Schapiro, S. y Vukovich, K. (1970): Early experience effects upon cortical dendrites: A proposed model for development. **Science, 167**: 292-294.

Scott, J.P. (1962): Critical periods in behavioral development. **Science, 138**: 949-958.

Scott, J.P. (1963): The process of primary socialization in canine and human infants. **Monogr. Soc. Res. Child Develop., 28**: 1-47.

Scott, J.P. (1968): The process of primary socialization in the dog. En: Newton, G. y Levine, S. (Eds.). **Early Experience and Behavior**. Ch. C. Thomas. Publ. Springfield. pp. 412-439.

Sima, A. (1974): Studies on fibre size in developing sciatic nerve and spinal roots in normal, undernourished and rehabilitated rats. **Acta. Physiol. Scand. Suppl., 406**: 5-55.

Siviy, S. y Panksepp, J. (1987): Juvenile play in the rat: thalamic and brain stem involvement. **Physiol. Behav., 41**: 103-114.

Small, W.S. (1899): Notes on the psychic development of the young white rat. **Am. J. Psychol., 11**: 80-100.

Stern, W.C., Forbes, W.B., Resnick, O. y Morgane, P.J. (1974): Seizure susceptibility and brain amine levels following protein malnutrition during development in the rat. **Brain Res., 79**: 375-384.

Thor, D.H. y Holloway, W.R. (1983): Play-solicitation behavior in juvenile male and female rats. **Anim. Learn. Behav., 11**: 173-178.

Torrero, C., Pérez, E., Loranca, A., Frías, C. y Salas, M. (1996): Privación auditiva y de nutrimentos sobre el desarrollo dendrítico de las neuronas eferentes a la cóclea de la rata. Memorias del XXXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Puebla, Pue., México.

Volkmar, F.R. y Greenough, W.T. (1972): Rearing complexity affects branching of dendrites in the visual cortex of the rat. **Science, 176**: 1445-1447.

Ward, I.L. y Stehm, K.E. (1991): Prenatal stress feminizes juvenile play patterns in male rats. **Physiol. Behav., 50**: 601-605.

Weininger, O. (1956): The effect of early experience on behavior and growth characteristics. **J. Comp. Physiol., 49**: 1-6.