

11281

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

CENTRO DE NEUROBIOLOGÍA  
CAMPUS UNAM-UAQ JURIQUILLA. QUERÉTARO, QRO. MÉXICO

“INFLUENCIA DE LA PRIVACIÓN PARCIAL O DEL EXCESO DE ESTIMULACIÓN  
OLFATORIA, SOBRE EL DESARROLLO DE LA CONDUCTA  
DE JUEGO EN LA RATA (*Rattus norvegicus*)”

19

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
DOCTORA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

Presenta:

Mtra. en C. F. **MARÍA ANGÉLICA LORANCA CORTEZ**

Director de Tesis: Dr. MANUEL SALAS A.

Querétaro, Qro.

2000

218791



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

La presente tesis se realizó en el Centro de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Bajo la tutoría del Dr. Manuel Salas Alvarado. Con el apoyo parcial de los siguientes proyectos: Proyecto IN200997 de la DGAPA, UNAM. Proyecto No. 3714-PN del CONACyT y de los Proyectos 030409 y 102338 del PAEP y de una beca completa que me otorgó la Dirección General de Estudios de Posgrado de la UNAM.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Manuel Salas A. por su asesoría académica en la realización del presente trabajo, y por brindarme una vez más todas las facilidades para llevar a cabo este proyecto de investigación.

Al comité Tutorial integrado por la Dra. Gabriela Morali de la Brena y la Dra. Gina Quirarte, por su valioso tiempo que dedicaron para revisar el documento y por todos sus puntos de vista en cada una de las evaluaciones.

Agradezco a los miembros del jurado sus atenciones y su mejor disposición para revisar la tesis, así mismo les agradezco por todas sus sugerencias que nos ayudaron a mejorar la presentación de la misma.

Dr. Manuel Salas A.

Dr. Roberto Prado A.

Dra. Gabriela Morali de la B.

Dra. Margarita Martínez G.

Dr. Hugh Drummond

Dr. Miguel Cervantes A.

Dra. Gabriela Rodríguez M.

Dra. Robyn Hudson

Al Dr. Marte Lorenzana, del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNAM, por su valiosa colaboración en este proyecto de investigación.

Al MVZ. José Martín García y a sus colaboradores, por el gran trabajo que realizaron en el bioterio y haber cuidado que mis ratas estuvieran en perfectas condiciones, lo cual me permitió llevar a cabo mis experimentos lo mejor posible.

Al Nutriólogo Fernando López, por su colaboración en la realización del material gráfico y en la elaboración de las diapositivas para la presentación de este trabajo.

A la Dra. Magdalena Giordano, por su constante disposición y colaboración en el análisis estadístico de los datos.

A los Doctores Carmen Aceves, Carlos Aramburo y Mauricio Díaz por apoyarme con material de su laboratorio cuando fue necesario.

Finalmente agradezco a toda mi familia, compañeras y amigas por sus muestras de afecto y apoyo moral que me brindaron en todo momento.

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis seres más queridos:

A mi esposo: *Antonio Fernández M.*

*Por toda su comprensión e incondicional  
apoyo para lograr esta meta.*

A mis padres: *Daniel Luis Loranca y Angelina Cortez*

*Por todo su amor y confianza que han  
depositado en mí a lo largo de mi vida.*

A mi hermana: *Verónica Loranca C.*

*Por sus enseñanzas y ejemplo, para  
alcanzar los objetivos que uno se propone.*

## ÍNDICE

	PÁGINA
RESUMEN -----	1
SUMMARY -----	3
INTRODUCCIÓN -----	5
-Estimulación sensorial temprana, desarrollo cerebral y conductas afines a la actividad de juego -----	6
-Sistemas olfatorios en los roedores -----	9
-Ontogenia del Bulbo Olfatorio (BO) -----	10
-Estructura y función de las células del BO -----	13
<i>Células mitrales</i> -----	13
<i>Células en penacho</i> -----	14
<i>Células granulares</i> -----	14
<i>Células periglomerulares</i> -----	15
-Neurotransmisores en el sistema olfatorio -----	16
-Niveles de procesamiento de las señales olfatorias -----	18
<i>Estación periférica (mucosa olfatoria)</i> -----	18
<i>Estación primaria o de recepción (bulbo olfatorio principal)</i> -----	19
<i>Estación secundaria (nivel perceptual)</i> -----	20
<i>Asta o cuerno de Ammon</i> -----	23
-Bulbo olfatorio accesorio -----	23
-Células del BO accesorio -----	24
-Conexiones del BO accesorio -----	24
-Características filogenéticas del juego -----	24
-Definición del juego -----	27
-Conducta social del juego -----	28
-Substrato neural de la conducta del juego -----	30

<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	32
<b>HIPÓTESIS</b> .....	32
<b>OBJETIVOS</b> .....	33
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	34
-Animales .....	34
-Procedimiento para la termocauterización de un poro nasal (Experimento 1) .....	36
-Procedimiento de estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo (Experimento 2) .....	38
-Prueba de olfacción .....	40
-Evaluación macroscópica de los BO .....	41
-Registro y evaluación de la conducta de juego .....	41
-Análisis estadístico .....	45
<b>RESULTADOS</b> .....	47
<b>EXPERIMENTO 1</b>	
-Termocauterización de un poro nasal .....	46
<i>Efectos de la privación unilateral del olfato sobre el desarrollo físico</i> .....	46
<i>Efectos de la privación unilateral del olfato sobre el desarrollo         de los componentes del juego</i> .....	49
<i>Efectos de la privación unilateral del olfato sobre el desarrollo         de los componentes del juego total durante el período         prepuberal y postpuberal</i> .....	56
<i>Efectos de la privación unilateral del olfato sobre el desarrollo         de los contactos físicos recibidos durante los períodos interjuego</i> .....	58
<i>Efectos de la oclusión de un poro nasal sobre         la capacidad de olfacción</i> .....	62



<i>Efectos de la termocauterización de un poro nasal sobre el largo, ancho y el peso húmedo de los BO</i> .....	62
---	----

## **EXPERIMENTO 2**

-Estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo .....	67
<i>Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo durante el período neonatal sobre el desarrollo físico</i> .....	67
<i>Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo sobre el desarrollo de los componentes del juego</i> .....	69
<i>Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo sobre el desarrollo de los componentes del juego total durante la etapa prepuberal y postpuberal</i> .....	76
<i>Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo sobre los contactos físicos recibidos durante los períodos interjuego</i> .....	76
<i>Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo sobre la capacidad de olfacción</i> .....	80
<i>Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo sobre el largo, ancho y el peso húmedo de los BO</i> .....	80

## **SECCIÓN 1**

-Termocauterización paranasal .....	84
<i>Efectos de la termocauterización paranasal sobre el desarrollo físico</i> .....	84
<i>Efectos de la termocauterización paranasal sobre el desarrollo de los componentes del juego</i> .....	87
<i>Efectos de la termocauterización paranasal sobre el desarrollo de los componentes del juego total durante el período prepuberal y postpuberal</i> .....	91
<i>Efectos de la termocauterización paranasal sobre los contactos físicos recibidos durante los períodos interjuego</i> .....	94

<i>Efectos de la termocauterización paranasal sobre la capacidad de olfacción</i> -----	98
<i>Efectos de la termocauterización paranasal sobre el largo, ancho y el peso húmedo de los BO</i> -----	98

## **SECCIÓN 2**

-Simulación de estimulación olfatoria libre -----	102
<i>Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre el desarrollo físico</i> -----	102
<i>Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre el desarrollo de los componentes del juego</i> -----	105
<i>Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre el desarrollo de los componentes del juego total durante el período prepuberal y postpuberal</i> -----	109
<i>Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre los contactos físicos recibidos durante los períodos interjuego</i> -----	112
<i>Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre la capacidad de olfacción</i> -----	112
<i>Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre el largo, ancho y el peso húmedo de los BO</i> -----	117

<b>DISCUSIÓN</b> -----	119
------------------------	-----

<b>CONCLUSIONES</b> -----	133
---------------------------	-----

<b>REFERENCIAS</b> -----	137
--------------------------	-----

## RESUMEN

El juego es una conducta que caracteriza a la mayoría de los mamíferos durante la etapa peripuberal. Durante su desarrollo se adquieren destrezas en la ejecución de patrones motores que al generar estimulación multisensorial, promueven el desarrollo cerebral. Estudios previos muestran que el retardo en la maduración sensorial asociado a la desnutrición neonatal, incrementa la conducta de juego, aunque no fue posible discernir cuál canal sensorial fue el que más contribuyó a este efecto. Considerando que la vía sensorial principal en especies macrosmáticas como la rata, es el sistema olfatorio, se investigó la participación de la olfacción sobre el desarrollo de la conducta de juego, en ratas Wistar de ambos sexos, termocauterizadas de un poro nasal (Experimento 1) o con un exceso de estimulación olfatoria, a base de acetato de amilo (Experimento 2).

La termocauterización se realizó a los 3 días de edad y la estimulación olfatoria del día 3 al 19 postparto, exponiendo a las ratas a vapores de acetato de amilo durante 10 min al día. Se registró el peso corporal y la apertura de los conductos auditivos externos y párpados. En los días 30 y 70 de edad se midieron cada uno de los bulbos olfatorios (BO) y se determinó su peso húmedo. La conducta de juego se registró en un cilindro de plástico transparente dentro de un cuarto sonoamortiguado iluminado con luz roja, después de 20 h de aislamiento individual. El juego se grabó en un videocassette en grupos de 4 ratas del mismo sexo y condición experimental durante 5 min diarios, en los días 20, 25, 30, 40, 50, 60 y 70 de edad. De los registros se midió la frecuencia del boxeo, la lucha y el encimamiento y los contactos físicos recibidos en la nuca, flancos, pelvis y dorso de los sujetos en los períodos interjuego. Se discriminó entre el juego en parejas y en conjunto y se comparó su frecuencia durante las etapas prepuberal y postpuberal. También se realizó una prueba de discriminación olfatoria para medir la capacidad de olfacción de los sujetos.

Los resultados del Experimento 1 mostraron un decremento significativo en el peso corporal, el largo, ancho y el peso húmedo de los BO, así como un retardo en la apertura de conductos auditivos externos y párpados en los sujetos termocauterizados de un poro nasal (ETPN), con respecto a sus controles con termocauterización paranasal (CTP). La frecuencia de los parámetros del juego se incrementó en los animales termocauterizados, siendo significativa esta diferencia en el boxeo, lucha y encimamiento en las hembras y en el boxeo y encimamiento en los machos. En general, el juego fue significativamente mayor

en los sujetos ETPN, en los machos, en pareja vs en conjunto y en el período prepuberal vs el postpuberal. Con relación a los contactos corporales, éstos fueron significativamente menores en los sujetos ETPN en la nuca y en la pelvis y con mayor frecuencia en los flancos y en el dorso. En los animales experimentales se redujo la capacidad de olfacción, para este efecto sólo fue significativo en los machos de 30 días de edad, sin cambios significativos en las hembras.

En el Experimento 2 se obtuvo un incremento significativo en el peso corporal y en el largo y el peso húmedo de los BO y un adelanto en la apertura de los conductos auditivos externos y párpados de los sujetos estimulados (EEOL). En el caso de los parámetros del juego sólo se obtuvieron diferencias significativas en las hembras, observándose disminución de la frecuencia del boxeo, de la lucha y del encimamiento en las del grupo EEOL con respecto a sus controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL). El juego en pareja fue significativamente mayor que el de conjunto y en el período prepuberal con respecto al postpuberal. Los contactos en la nuca, la pelvis y el dorso disminuyeron significativamente en los sujetos EEOL con respecto a sus testigos. La capacidad de olfacción estuvo disminuida sólo en el caso de las hembras del grupo EEOL de 30 y 70 días de edad.

En el presente estudio corroboramos los resultados obtenidos de las manipulaciones experimentales realizadas. Se compararon los datos de los sujetos CTP y CsEOL vs sus respectivos controles sin ningún tipo de manipulación experimental. El juego de los sujetos del grupo CTP se decrementó y el de los sujetos del grupo CsEOL se incrementó.

Los hallazgos sugieren que la restricción o el exceso en el ingreso olfatorio neonatales, provocan alteraciones tanto en el desarrollo físico, como en la expresión del juego. Se sugiere que estas alteraciones se deban al desbalance o al exceso en el ingreso de la información olfatoria que a través de los distintos relevos de la vía, activarían de forma diferente al substrato neural olfatorio y a las estructuras límbicas que regulan la ingesta de alimento y la expresión de la conducta social de juego. El hecho de que las alteraciones en los componentes del juego sean moderadas, pone de manifiesto la gran capacidad plástica del cerebro de los animales recién nacidos, para contender durante etapas críticas del desarrollo con los efectos provocados por diversas influencias perinatales.

## SUMMARY

Play behavioral performance is a unique component of the mammalian behavioral repertoire closely related to the influence of a number of environmental cues. Previous data have shown that both neonatal undernutrition and nonspecific sensory deprivation result in an increased frequency of play in the rat, though was not possible to discern the role of each sensory system. Because in rodents the olfactory channel is the most important sensory avenue, in the current experiment it was investigated the role of olfaction on play maturation of Wistar strain rats unilaterally deprived of odor input (Experiment 1) or exposed to an excess of amyl acetate stimuli (Experiment 2) during the preweaning period.

Unilateral deprivation of olfaction was performed by the thermocauterization of a nasal pore on postnatal day 3. Moreover, olfactory stimulation was obtained by the daily exposure (10 min) of newborn rats (3-19 days of age) to an excess of amyl acetate. Body weight and ear and eye-opening were scored when pertinent to evaluate the physical growth of rats. In subjects of 30 or 70 days of age in both Experiment 1 and Experiment 2 were obtained the length, width and wet weight of olfactory bulb (OB). The frequency of boxing, wrestling and pinning in pairs or in groups was recorded (5 min) in juvenile groups of 4 rats of the same sex and experimental groups in a sound-proof chamber on days 20, 25, 30, 40, 50, 60 and 70 postpartum. The number of contacts received by subjects to the nape, lateral abdominal and pelvic areas and dorsum during the interplay periods was also noted. Moreover, an olfactory discriminative test to determine the olfactory capacity of subjects was performed.

Thermocauterized rats (TC) exhibited significant reductions in body weight measures, in the length, width and wet weight of OB and delayed ear and eye-opening. Furthermore, the frequency of play was significantly increased in boxing, wrestling and pinning of females and in boxing and pinning of males. Additionally, play behavior was significantly increased in the group TC, in males, in the play in pairs and during the prepuberal period. Body contacts were significantly reduced in the nape and pelvis and increased in the lateral abdominal and dorsum areas. Olfactory discrimination was significantly reduced only at 30 days of age in males, without effects in females.

Amyl acetate exposed rats (AaE) showed significant increments in the physical growth of rats and in the length and wet weight of OB. Moreover, the total frequency of boxing, wrestling and pinning was only significantly increased in females. Play behavior was also significantly increased in the play in pairs and during the prepuberal period. The number of body contacts was significantly reduced in the nape, pelvis and the dorsum areas of olfactory stimulated rats compared to their controls. Olfactory discrimination was significantly decreased at 30 and 70 days of age in females without significant changes in males.

In order to evaluate the effects of experimental manipulations, we compared the differences of the play behavior among the TC group vs CONTROL (without experimental manipulation) and AaE vs CONTROL. The play behavior was significantly decreased in the TC group and increased in the AaE group.

Experimental findings showed that early in life the unilaterally deprived or increased olfactory cues maneuvers, disturbed the physical growth and the play behavior of juvenile rats. Moreover, that morphofunctional alterations associated to neonatal olfactory system manipulation are possibly attenuated when they are concurrent with the plastic pluripotential capabilities of brain growing. However, the impact of early olfactory stimuli upon the morphofunctional social behavioral development requires further experimental studies.

## INTRODUCCIÓN

Durante el período perinatal el cerebro de las especies que mantienen una gran inmadurez morfológica y funcional (altriciales), es altamente vulnerable a la influencia de numerosos factores medio ambientales que complementan las acciones dependientes de los factores genéticamente programados. Así es como durante este período se define la organización del substrato neural que gobierna tanto los procesos fisiológicos primitivos, involucrados en la sobrevivencia de los recién nacidos, como aquéllos que subyacen a funciones de gran refinamiento y capacidad plástica. De acuerdo a estudios previos, la mencionada vulnerabilidad cerebral depende de la concurrencia temporal, durante etapas críticas de la ontogenia neural, de diversos procesos neurogenéticos (neurogénesis, migración y diferenciación neuronales, sinaptogénesis, mielinización, gliogénesis, angiogénesis, apoptósis, etc.), mediante los cuales se ensambla y organiza el cerebro en desarrollo (Dobbing, 1972). En este contexto se sabe que la desnutrición perinatal (Morgane y col., 1992, 1993), la reducción o el exceso de estimulación sensorial (Volkmar y Greenough, 1972; Pascual y col., 1996; Loranca, 1997; Regalado y col., 1999), los niveles anormales de hormonas circulantes en el medio interno (Salas y Schapiro, 1970; Berbel y col., 1994; Lucio y col., 1997) y la administración de fármacos o de neurotóxicos a la madre gestante o a los recién nacidos (Lorenzana y Salas, 1990; Carrillo y col., 1994), son algunos de los factores medio ambientales que con mayor frecuencia interfieren con el desarrollo cerebral del recién nacido modulando su organización citoarquitectónica y su función.

Normalmente el desarrollo neuronal se da en forma asincrónica, generándose primero aquellas estructuras que deberán estar maduras y funcionando para asegurar la sobrevivencia del recién nacido en su nicho ecológico. Éste es el concepto de la sistemogénesis acuñado por Anokhin, que tiene validez tanto para especies que al nacimiento tienen un importante desarrollo cerebral (precociales) como para las altriciales (Anokhin, 1964). En cambio se desarrollarán tardíamente aquellas áreas neurales cuyas funciones sean refinar, hacer versátiles o complementar el desarrollo de

circuitos cerebrales para funciones que contribuyan a la supervivencia y la adaptación del recién nacido a su medio ambiente.

Estimulación sensorial temprana, desarrollo cerebral y conductas afines a la actividad de juego

En la década de los años cuarenta se propuso que las alteraciones en la conducta de los animales expuestos a maniobras de estimulación sensorial temprana, podrían explicarse como resultado del impacto provocado por el incremento en el flujo de los impulsos nerviosos, asociado a la estimulación sobre el tejido nervioso en crecimiento. De esta manera, el exceso en el ingreso de estímulos sensoriales a las estructuras cerebrales en crecimiento podría incrementar el número de las interconexiones neuronales en áreas como la corteza cerebral y la formación reticular mesencefálica (Hebb, 1949). En el mismo sentido se estableció posteriormente, que la manipulación diaria por períodos cortos (3 a 15 min), a crías recién nacidas hasta antes del primer mes de edad, provocaba que durante el estado adulto, éstas fueran emocionalmente más estables y que su capacidad para aprender a explorar y desarrollar conducta maternal se viese significativamente favorecida (Bernstein, 1952; Weininger, 1956; Levitsky y Barnes, 1972; Salas y col., 1984; Escobar y Salas, 1987; Regalado, 1997; Regalado y col., 1999).

En otras investigaciones se ha sugerido que la aceleración en el crecimiento neuronal podría ser el resultado de un incremento inicial en el metabolismo neuronal, el cual desencadenaría a través de señales endógenas (aumentos de CO<sub>2</sub> y de otros metabolitos), un incremento en el flujo sanguíneo cerebral, aumentando así el aporte de nutrimentos al tejido neuronal inmaduro y que da por resultado un mejor crecimiento y establecimiento de interconexiones neuronales (Schapiro y Vukovich, 1970). Apoyan esta hipótesis diversos estudios conductuales en los cuales se ha descrito que los animales adultos que fueron estimulados diariamente (15 min) por manipulación durante el período previo al destete, son emocionalmente más estables (orinan y



defecan menos), exploran más libremente cuando son colocados en un ambiente novedoso y aprenden mejor en diversas pruebas de condicionamiento (Denenberg y Morton, 1962; Escobar y Salas, 1987). Asimismo, la respuesta adrenocortical asociada al estrés provocada por la manipulación, también se reduce como resultado de la estimulación sensorial previa (Walker y Aubert, 1988). Por otra parte, diversos estudios morfológicos muestran que los animales manipulados antes del destete presentan un mayor grosor y peso de la corteza cerebral, así como un incremento en el número de las dendritas y de los procesos espinosos en las neuronas piramidales grandes de la neocorteza (Bennett y col., 1964; Schapiro y Vukovich, 1970; Rosenzweig y Bennett, 1972; Ruíz-Marcos y col., 1979; Sirevaag y Greenough, 1988; Pascual y col., 1993, 1996).

Paralelamente, se sabe que esta aceleración del crecimiento neuronal va asociada a un incremento en el desarrollo de los potenciales eléctricos provocados por la aplicación de estímulos sensoriales (Leah y col., 1985). Por el contrario, la privación sensorial por varios días de los animales o el retardo de su desarrollo sensorial por medio de la desnutrición neonatal, empobrece el crecimiento de los árboles dendríticos de neuronas en las áreas visual y motora de la corteza cerebral (Ruíz-Marcos y col., 1979; Pascual y col., 1993, 1996). Estas alteraciones se correlacionan con el trastorno en la expresión de patrones de movimiento elaborados como es el caso de la conducta de juego (Tonkiss y col., 1990; Loranca, 1997; Loranca y col., 1999).

De una manera general se acepta que el exceso de estímulos sensoriales detectado por los distintos receptores periféricos, genera incrementos significativos en los patrones de descarga de los impulsos nerviosos a través de los nervios correspondientes hacia los centros de integración supraespinal. Estos incrementos inciden directamente en el tejido cerebral inmaduro a través de la liberación de factores de crecimiento del tipo del Factor de Crecimiento Nervioso (NGF) (Levi-Montalcini, 1987; Guroff, 1993), los factores de crecimiento de tipo insulínico I y II (IGF-I e IGF-II), siendo los primeros los mayormente relacionados con el desarrollo neuronal (Recio-

Pinto y col., 1986; Bondy y Wei-Hua, 1993). Por el contrario, en el cerebro maduro la estimulación sensorial origina principalmente cambios en la excitabilidad del tejido neuronal y en su función plástica, que pueden tener un efecto temporal o permanecer por largo plazo asociados o no a la liberación de factores de crecimiento (Salas y col., 1984; Regalado, 1997). El desarrollo cerebral puede evaluarse por el análisis de los potenciales eléctricos en la corteza somestésica, provocados por la estimulación eléctrica del nervio ciático. Los estudios han mostrado que a la edad de 16 días coincidiendo con el inicio de la actividad motora asociada a las conductas de nado, autoaseo, juego, locomoción, correr, treparse, etc., aumenta la variabilidad de las ondas cerebrales espontáneas e inducidas en el área somestésica. Los hallazgos sugieren que la hiperexcitabilidad de la corteza cerebral tiene relación con el ingreso en exceso de la estimulación somatosensorial periférica predestete (Salas y Cintra, 1973).

La participación de la estimulación sensorial en la promoción del crecimiento cerebral puede verificarse cuando se limita o se priva de estímulos sensoriales y de movimiento a los animales recién nacidos. Así, los perros recién nacidos privados de luz, sonido y contacto físico, presentan un exceso de movimientos estereotipados de tipo circular, hostilidad a los estímulos ambientales, e hiperemotividad en respuesta hacia ambientes novedosos que generan estrés (Melzack y Burns, 1964). Se han descrito efectos similares en roedores en los que se ha trastornado la relación madre-cría por el empleo de distintos métodos de desnutrición (Cowley y Griesel, 1963; Levitsky y Barnes, 1972; Salas y Cintra, 1979; Salas y col., 1984; Regalado, 1997).

El exceso en la estimulación sensorial temprana también puede tener efectos benéficos para revertir algunas de las deficiencias en los componentes de la conducta maternal alterada de ratas desnutridas durante el período neonatal, tales como la construcción del nido, el tiempo de alimentación, la conducta de acarreo y el lamido dirigido hacia las crías recién nacidas (Salas y col., 1984; Regalado, 1997; Regalado y col., 1999).

## Sistemas olfatorios en los roedores

En los roedores, el sistema sensorial más importante para sus interacciones con el mundo exterior es sin duda el sistema olfatorio, el cual les confiere una enorme capacidad de respuesta y adaptación hacia las constantes demandas del mundo exterior. En efecto a través de este sistema la rata puede por ejemplo, regular tanto funciones primitivas como el reconocimiento de sus congéneres, la ingesta o la repulsión del alimento, la discriminación de los distintos componentes de la dieta y la modulación de variadas conductas sociales como la conducta maternal, la conducta sexual, el lamido anogenital de las crías, la comunicación de diversas situaciones estresantes, etc., (Salas y col., 1969, 1970; Rosenblatt y col., 1988; Brouette-Lahlou y col., 1991; Melniczer y Ward, 1994; Salas y col., 1996).

En general, para el desempeño de las funciones antes señaladas en los mamíferos, se han descrito al menos dos sistemas olfatorios que clásicamente se han denominado como el sistema olfatorio principal y el sistema olfatorio accesorio o sistema vomeronasal. Actualmente, se habla de un sistema de órganos olfatorios que comprende las siguientes estructuras: 1) el primer par craneal o nervio olfatorio y sus conexiones centrales (sistema olfatorio principal), cuya función se relaciona con la recepción, transmisión, integración central de estímulos olfatorios y la percepción de olores que orientan la conducta del animal hacia las fuentes circundantes; 2) el sistema vomeronasal presente en la mayoría de las especies de vertebrados, excepto al parecer en las aves, que tiene como función el relacionarse con el medio ambiente, regular los sistemas de control neuroendócrino y modular las conductas sexual, social y alimentaria; 3) el sistema trigeminal que inerva la mucosa de la cavidad nasal y permite detectar estímulos táctiles, dolorosos y térmicos producidos por agentes volátiles así como los estímulos que actúan localmente; 4) el sistema del nervio terminal que inerva receptores olfatorios, trigeminales y vomeronasales relacionados principalmente con la quimiorrecepción, particularmente de feromonas y el desencadenamiento de patrones de comportamiento específicos hacia miembros de la misma especie y 5) el órgano

septal de Masera, cuya función es aún incierta, aunque posiblemente esté relacionada con funciones arcaicas de comunicación ambiental elemental (Mora-Novaro y Sánchez-Criado, 1992).

### Ontogenia del Bulbo Olfatorio (BO)

Mediante el empleo del método de autorradiografía utilizando la timidina tritiada ( $^3\text{H}$ ), inyectada a ratonas embarazadas en distintas etapas de la gestación, ha sido posible estudiar en el feto tanto la proliferación como la migración neuronal en el BO en desarrollo (Hinds, 1968a,b). Básicamente se sabe que con esta metodología, la timidina marcada se incorpora a la molécula del ácido desoxirribonucleico (DNA) durante sus etapas de síntesis y posteriormente se distribuye a cada célula durante la mitosis. Así, a medida que el número de las neuronas se incrementa, la marca del isótopo radiactivo gradualmente se diluye impregnando escasamente las placas fotográficas. Por el contrario, cuando la marca se incorpora al DNA en las etapas finales de la neurogénesis, la marca radiactiva en las placas es más intensa debido a que la división celular cesa al ocurrir la diferenciación neuronal. De esta manera se sabe que hasta el día Gestacional 9 (G9), no se define aún ninguna estructura olfatoria y que posteriormente todas las neuronas que integran la vía mencionada, surgen de la zona germinal periventricular. En el día G12 aparecen en la porción anterior del encéfalo las primitivas vesículas olfatorias, con una zona matriz o endimaria primitiva profunda y la capa del manto ubicada hacia el exterior. En los días G13 y G14 ambas zonas son ya más evidentes a la microscopía de luz. En la capa del manto se originan las células mitrales, siendo éstas más grandes que las del BO accesorio. Las células mitrales migran periféricamente a una velocidad de  $85\mu/\text{día}$  hasta alcanzar su posición definitiva 4 días después de la diferenciación neuronal, identificada ésta por la terminación de la síntesis del DNA en el día G15. Los neuroblastos que generan a las células granulares (microneuronas), que se originan al final de la neurogénesis del BO, se desplazan a

una velocidad de  $90\mu/\text{día}$  a través de las células mitrales y las de penacho para ocupar su sitio definitivo.

Por lo tanto, la neurogénesis tardía de las células en penacho y de las neuronas granulares del BO principal, pudiera hacer a esta estructura más vulnerable a la acción de diversas influencias nocivas perinatales del tipo de los fármacos y neurotóxicos y la manipulación en el ingreso de las señales olfatorias, modulando así su crecimiento, organización estructural y su funcionamiento. De esta manera, la capacidad funcional en la comunicación olfatoria de los miembros de una misma especie puede ser parcialmente dependiente de la acción de algunas de estas influencias del medio ambiente.

En la formación del BO principal participan tres tipos de células: las mitrales, las en penacho y las granulares. Las primeras células que se originan son las células mitrales (macroneuronas) que aparecen en un lapso que se extiende del día G11 al G15, siendo más importantes los días G12 y G13. Las segundas surgen en el día G10 y terminan su migración hasta el día G18. Su período de origen es de 9 días, siendo la neurogénesis más intensa en los últimos seis días. Finalmente, se originan las células granulares, las cuales inician su división en el día G11 continuándose hasta 4 meses después del nacimiento. Estas últimas células son las que tienen un período de origen más largo, alcanzando el pico máximo de su neurogénesis entre los días G17 al día 20 postnatal (P20) (Hinds, 1968a), (Fig. 1A). Para el día P1 ya es posible distinguir las capas del BO que caracterizan al animal adulto (Hinds, 1968b).

Para el caso de la formación del BO accesorio solamente hay dos tipos de neuronas. Primero se originan las células mitrales (G10-G12) y posteriormente en un período más prolongado, se originan las células granulares (G11-P20) alcanzando su valor máximo de neurogénesis entre los días G15 a G18 (Fig. 1B).

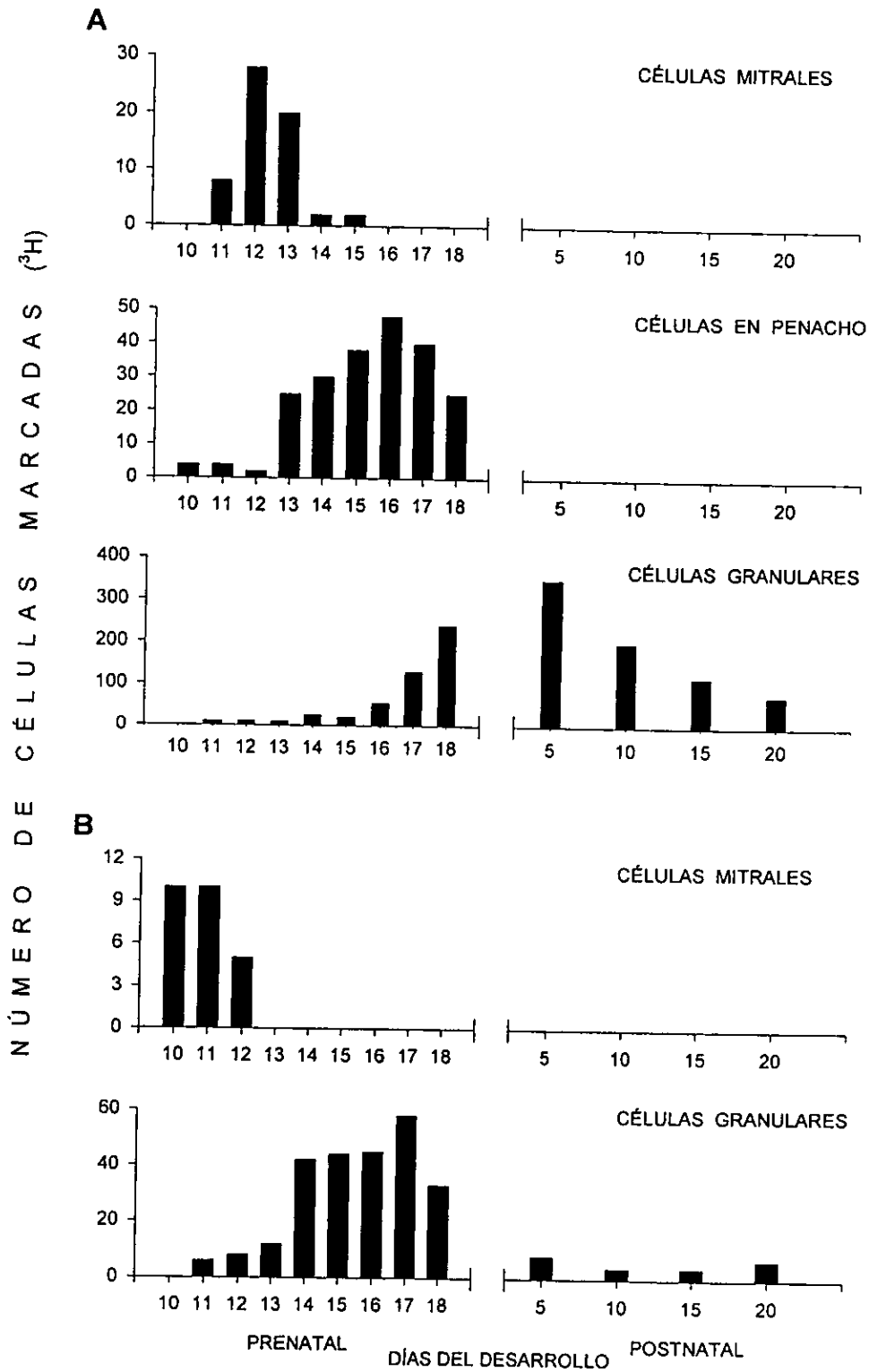


Fig. 1. Tiempo de origen de los principales tipos de neuronas en la formación del bulbo olfatorio principal (A) y accesorio (B) (Modificado de Hinds, 1968a).

## Estructura y función de las células del BO

### *Células mitrales*

Como se mencionó anteriormente, existen tres tipos de células en el BO principal, originándose en primer lugar las células mitrales. Estas son las células cuyos axones forman la vía principal de salida del BO y que están constituidas por 3 partes: 1) una sola dendrita apical primaria, que se extiende hasta el glomérulo olfatorio para recibir la información de aproximadamente 10,000 axones de las células receptoras. Este alto índice de convergencia incrementa la sensibilidad a los olores; 2) alrededor de 8 dendritas basales o secundarias las cuales se extienden lateralmente hacia áreas amplias del BO, y 3) un axón que se proyecta a través de las estrías olfatorias intermedia y lateral a toda la corteza olfatoria (Hudson y Distel, 1995) (Fig. 2). Poco se sabe de la respuesta fisiológica de las neuronas mitrales a los estímulos olorosos, no obstante, sus respuestas son más selectivas y sensibles a los olores comparadas con las células receptoras. Sin embargo, se tiene mayor evidencia de los cambios morfológicos que sufren las células mitrales, cuando se expone a los sujetos a estímulos olorosos con compuestos químicos volátiles como ciclohexanona, acetofenona o acetato de amilo. Se ha descrito, que el acetato de amilo es el que provoca mayores cambios en dichas células ya que éstas muestran un mayor crecimiento de sus arboles dendríticos (Panhuber y Laing, 1987). Las células mitrales responden a una amplia variedad de estímulos olfatorios habiendo partes de las células mitrales que responden a un estímulo específico, siendo la respuesta fásica al inicio de la estimulación, tónica durante toda la presentación del estímulo o bien inhibitoria. Asimismo, pueden responder a una amplia variedad de olores con patrones complejos de actividad excitatoria o inhibitoria, los cuales cambian dependiendo del tipo de olor y de la concentración del mismo (Hudson y Distel, 1995).

### *Células en penacho*

Los cuerpos celulares fusiformes de estas neuronas, varían considerablemente en tamaño como una función de la profundidad a la que se encuentran (ver Switzer y col., 1985). Las células en penacho externas tienen cuerpos celulares pequeños confinados a la región periglomerular, las medianas se localizan en la parte media externa de la capa plexiforme externa, mientras que las grandes se localizan en la parte media interna de la capa plexiforme externa (Fig. 2). La localización topográfica de estas células también se correlaciona con diferencias en la organización espacial de sus dendritas. Las células en penacho internas tienen numerosas dendritas secundarias extendiéndose éstas en la parte profunda de la capa plexiforme externa, mientras que las células en penacho externas no tienen dendritas secundarias y sus ramas primarias se localizan predominantemente dentro de los glomérulos olfatorios. La mayoría de estas células proyecta sus axones hacia el tracto olfatorio lateral.

### *Células granulares*

Las células granulares son células bipolares, su dendrita apical alcanza la capa plexiforme externa, donde hacen sinapsis con las dendritas basales de las células mitrales (Fig. 2). Se ha planteado que estas células son las responsables de la modulación de la actividad de las células mitrales a través de conexiones dendro-dendríticas (Hudson y Distel, 1995). Las sinapsis dendro-dendríticas y mitral-granulosas son recíprocas y funcionan excitando por una parte (de la mitral a la granulosa) e inhibiendo por la otra (de la granulosa a la mitral). De esta manera, se ha sugerido que la célula granulosa modula la señal de salida de la célula mitral. Las células granulares internas reciben conexiones intrínsecas y extrínsecas. Las intrínsecas vienen de las dendritas basales de las células mitrales, de las células en penacho y de sus axones colaterales así como de las células de axón corto de la capa granular interna. Mientras



que todos los axones aferentes intrínsecos alcanzan las dendritas periféricas, los axones extrínsecos se ponen en contacto con los procesos dendríticos-centrales y periféricos de las células de la capa granulosa (Switzer y col., 1985), (ver Fig. 2).

### *Células periglomerulares*

Las células periglomerulares ubican sus cuerpos celulares alrededor de los glomérulos olfatorios, tienen su árbol dendrítico confinado a un glomérulo y un axón que conecta lateralmente al glomérulo adyacente (ver Fig. 2). La acción de estas células es inhibitoria por medio de sinapsis dendro-dendríticas y axo-dendríticas, en las capas glomerular y plexiforme externa respectivamente.

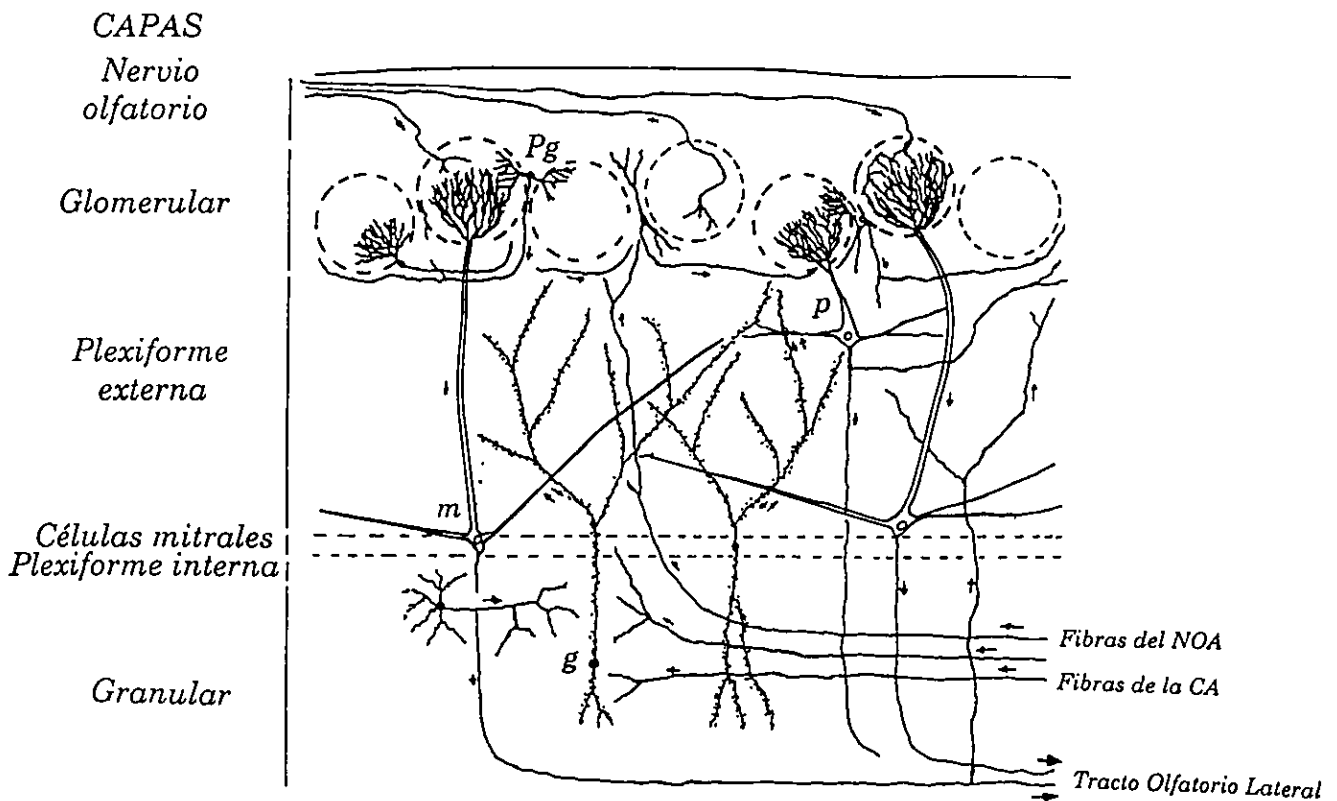


Fig. 2. Diagrama de los tipos principales de neuronas del BO de mamífero (*Pg* = célula periglomerular, *m* = célula mitral, *g* = célula granular, *p* = célula en penacho). NOA= núcleo olfatorio anterior, CA= comisura anterior (Modificado de Shepherd, 1972).

## Neurotransmisores en el sistema olfatorio

Se ha descrito que el ácido glutámico y el óxido nítrico son los posibles neurotransmisores de las *células receptoras olfatorias*, aunque también se han encontrado elevadas concentraciones de carnosina en el epitelio olfatorio. El BO es modulado en su actividad neuronal por fibras de naturaleza colinérgica, serotoninérgica y noradrenérgica. De varios estudios se ha establecido que en los vertebrados las primeras etapas de la transducción química en la olfacción, ocurren en los cilios de las neuronas olfatorias.

Para el caso de las *células mitrales* y de las *células en penacho*, se ha sugerido que el glutamato y/o el aspartato pueden funcionar como neurotransmisores excitatorios en sus proyecciones. Sin embargo, algunas células en penacho externas parecen funcionar como interneuronas más que como neuronas de proyección (Fig. 3). Asimismo, algunas de estas células pueden sintetizar dopamina o bien sustancia P, o quizás ambas, lo que hace complicada la interpretación de su función (Switzer y col., 1985).

En los mecanismos de transmisión química de las *células granulares* están involucradas de manera importante las fibras catecolaminérgicas. Existen evidencias de que los neurotransmisores inhibitorios de estas células son el ácido gamma-aminobutírico (GABA), la norepinefrina y la acetilcolina. Sin embargo, también se ha descrito que las células granulares son despolarizadas por un aminoácido excitatorio, del tipo del glutamato, aspartato o el péptido N-acetil-aspartil-glutamato (Fig. 3).

Finalmente en las *células periglomerulares*, se ha demostrado que en la rata las fibras colinérgicas que terminan a nivel de éstas sintetizan GABA, dopamina y sustancia P (Switzer y col., 1985).

Esta serie de evidencias pone de manifiesto la gran versatilidad que tiene el substrato neuronal del BO y sus conexiones para el manejo de la información proveniente de distintos sistemas de neurotransmisión. Este substrato debe de tener un correlato funcional muy variado recíprocamente dirigido tanto hacia el medio externo como al interno hasta el momento pobremente conocido.

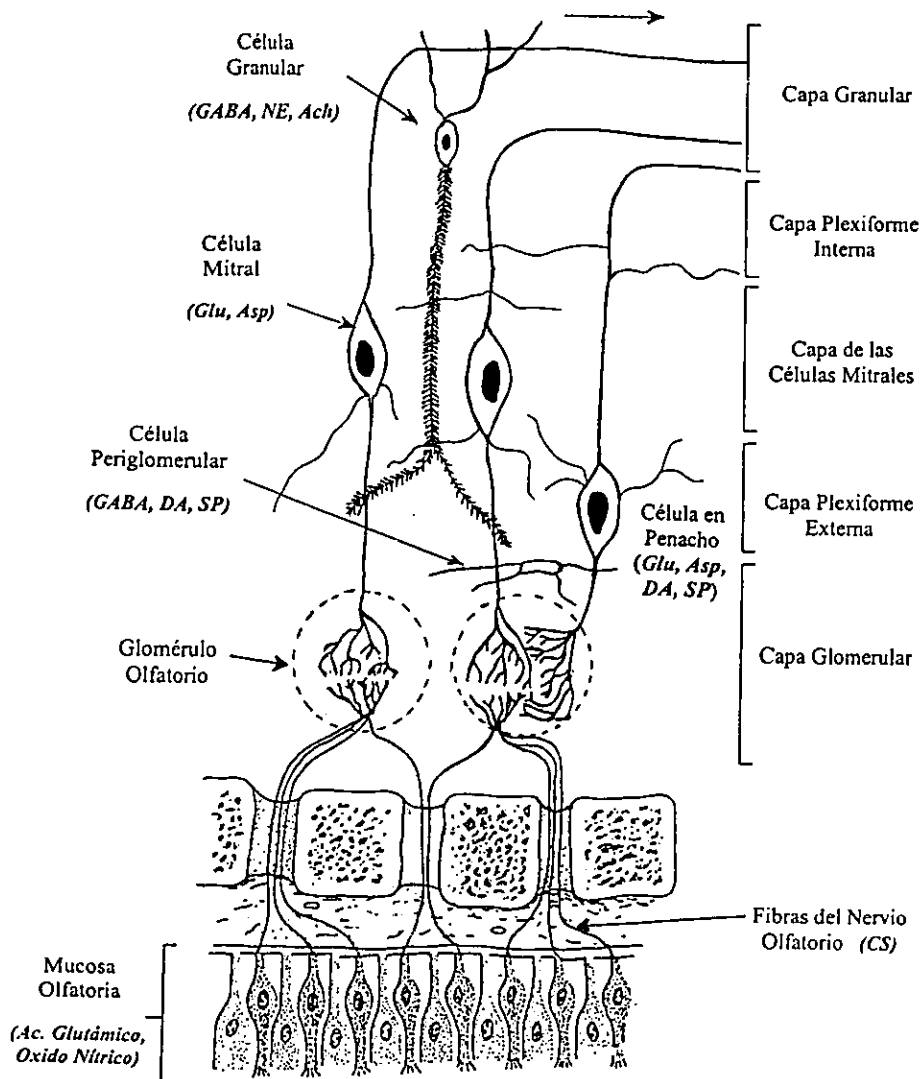


Fig. 3. Principales neurotransmisores que se han propuesto para modular el funcionamiento de las células del BO. GABA (ácido gamma aminobutírico), NE (norepinefrina), Ach (acetilcolina), Glu (glutamato), Asp (aspartato), DA (dopamina), SP (sustancia P) y CS (carnosina) (Modificado de Mora-Novaro y Sánchez-Criado, 1992).

## Niveles de procesamiento de las señales olfatorias

El sistema olfatorio se encuentra organizado en 4 estaciones o niveles de procesamiento de las señales olfativas. Estos niveles son: 1) el órgano colector o estación periférica (mucosa olfatoria), 2) la estación primaria o de recepción (bulbo olfatorio principal), 3) la estación secundaria o centro cerebral de percepción y 4) el asta o cuerno de Ammon.

### *1. Estación periférica (mucosa olfatoria)*

Los receptores olfatorios son neuronas bipolares modificadas que tienen una dendrita que se extiende entre las células de sostén hasta la superficie de la mucosa olfatoria, terminando como un pequeño bulbo expandido llamado vesícula olfatoria. Funcionalmente, estas células combinan las características de un receptor periférico y de una neurona sensorial.

La mucosa olfatoria consta de 2 capas separadas por una membrana basal: el neuroepitelio y la lámina propia. En el neuroepitelio se llevan a cabo los procesos de recepción, transducción y amplificación de las señales olfatorias. Este es un epitelio cilíndrico, pseudoestratificado, compuesto de 3 tipos celulares: células receptoras olfativas, células de sostén o secretoras y células basales. Varias prolongaciones, filamentos y cilios se extienden de la vesícula olfatoria hacia la capa de moco cubriendo el epitelio. La membrana de los cilios aparentemente contiene en su superficie los receptores sensoriales capaces de reconocer las moléculas odoríficas contenidas en el moco. La lámina propia está constituida por tejido conectivo rico en vasos sanguíneos y glándulas, que es atravesado por los axones de las células sensoriales olfatorias (Mora-Novaro y Sánchez-Criado, 1992), (ver Fig. 4).

## 2. Estación primaria o de recepción (bulbo olfatorio principal)

El BO es un órgano oblongo, en cuyo centro yace un ventrículo más o menos obstruido por la fusión del epitelio endotelial. Su corteza consta de 6 capas concéntricas, que de la parte exterior hacia la interior tienen el siguiente orden: 1) capa del nervio olfatorio, 2) capa glomerular, 3) capa plexiforme externa, 4) capa de células mitrales, 5) capa plexiforme interna y 6) capa granular (Fig. 3).

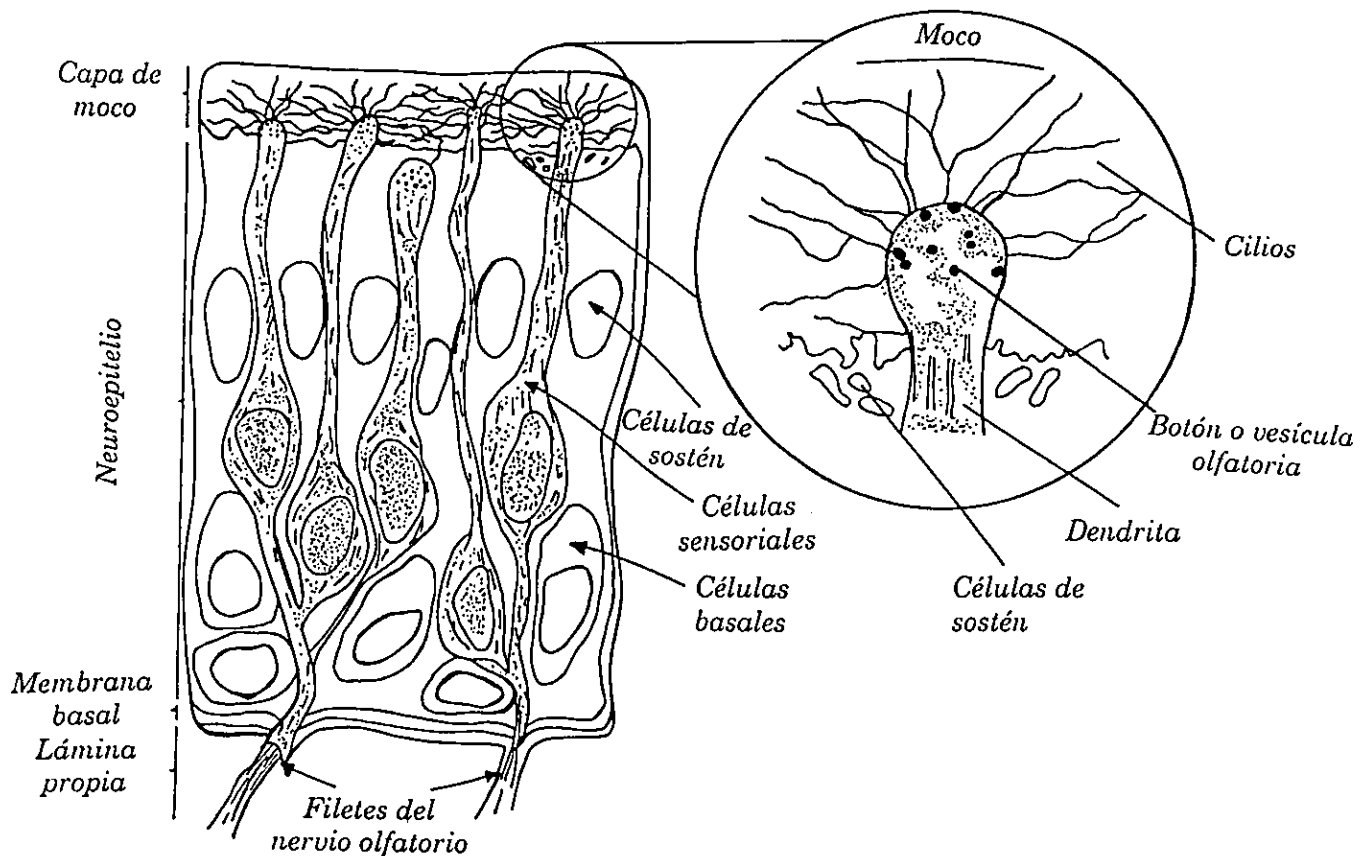


Fig. 4. Estructura de la mucosa olfatoria. A la derecha en la porción aumentada y limitada por el círculo, se muestran detalles de la estructura de un botón o vesícula olfatoria. (Modificado de Mora-Novaro y Sánchez-Criado, 1992).

Los fascículos del nervio olfatorio que forman un plexo denso en la superficie del BO conforman la capa del nervio olfatorio. Los axones de las células bipolares son

amielínicos y se proyectan al BO, unidos para formar haces que atraviesan la lámina cribosa del hueso etmoides en la base del cráneo, llegando al glomérulo olfatorio donde hacen sinapsis con las ramificaciones de las dendritas primarias de las células mitrales, en penacho y granulares (ver Hamilton, 1976). Estos axones dan origen a la capa glomerular. En las capas más profundas del BO se localizan los cuerpos de las células mitrales, que dan origen a la capa del mismo nombre. Esta capa se encuentra rodeada por fuera por la capa plexiforme externa, en la que hacen sinapsis las espinas de las dendritas de las células granulares con las dendritas de las células mitrales y por dentro, por la capa plexiforme interna formada por un plexo denso de fibras mielínicas. El mayor número de neuronas en el BO corresponde a las células granulares, las cuales forman la capa granular (Hudson y Distel, 1995).

### *3. Estación secundaria (nivel perceptual)*

La primera estación olfativa reside en los glomérulos olfatorios donde empieza la vía aferente generada a partir de las células mitrales. Los axones de estas neuronas centrales forman varias rutas o vías de acceso que abordan el pedúnculo del BO, en cuya zona superficial se concentran. La ruta que reúne la mayoría de los axones de las células mitrales es la ubicada en el lado externo e inferior del pedúnculo olfatorio que termina en las inmediaciones del cerebro y la raíz media localizada en la cara inferior e interna del pedúnculo.

Además de estas vías superficiales formadas por la reunión de los axones de las células mitrales, hay otra ruta central, resultado de la agrupación de los axones de las células en penacho, que se proyecta posteriormente hacia el centro del BO constituyendo la vía comisural. Esta ruta es uno de los 2 sistemas de fibras principales que se han descrito para el BO denominados tracto olfatorio intermedio (TOI) y tracto olfatorio lateral (TOL) (Hamilton, 1976).

*Comisura anterior.*- La comisura anterior tiene una división rostral y otra posterior. En los roedores y en otros animales macrosmáticos la parte rostral es la más gruesa, mientras que en los microsmáticos es a la inversa (Switzer y col., 1985).

Las fibras que forman la comisura anterior se originan en las neuronas mitrales de un lado y proyectan al núcleo olfatorio anterior (NOA) ipsilateral. En el hacen sinapsis con las neuronas que forman la comisura anterior (Fig. 5). Posteriormente, estas últimas fibras atraviesan la línea media y aparecen en la parte contralateral proyectándose con un componente dorsal y otro rostral. El componente dorsal (d) asciende para terminar en el BO accesorio contralateral. El componente rostral (r) proyecta más anteriormente y termina en el núcleo olfatorio anterior y en el BO principal contralaterales. Estas últimas conexiones, se establecen principalmente con las dendritas de las células granulares internas rodeando al TOI. Aunque la parte principal de la comisura anterior es un sistema cruzado, hay también una proyección ipsilateral (i) profunda que esencialmente se agrupa con las vías de proyección del TOL (Fig. 5).

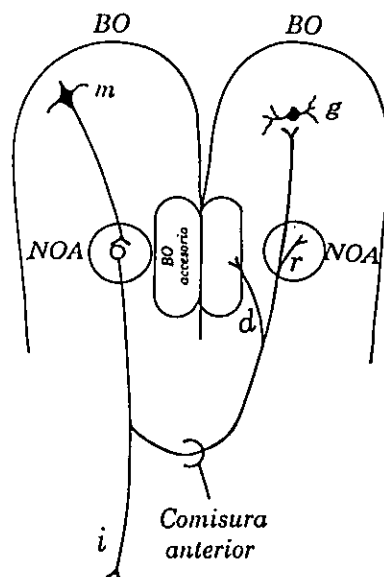


Fig. 5. Conexiones de la parte anterior de la comisura anterior. BO = bulbo olfatorio (m = célula mitral, g = célula granular), proyecciones de la comisura anterior (d = dorsal, i = ipsilateral, r = rostral), NOA = núcleo olfatorio anterior (Modificado de Hamilton, 1976).

## Tracto olfatorio lateral (TOL)

El TOL está formado por 3 capas: la capa molecular, la capa superficial de células densas y la capa profunda de células multiformes. Muchas de las fibras del TOL son los axones largos de las células mitrales. Estas fibras pasan a lo largo de la base del cerebro y terminan en la corteza piriforme, el tubérculo olfatorio (TO), el núcleo del tracto olfatorio lateral (NTOL) y el NOA donde hacen sinapsis con fibras que posteriormente proyectan a otras estructuras (Fig. 6).

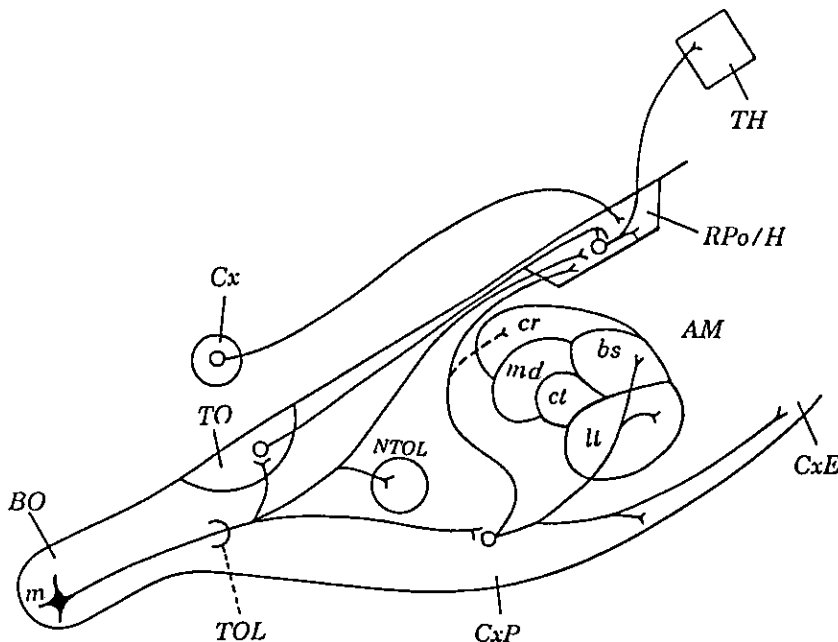


Fig. 6. Conexiones del tracto olfatorio lateral (TOL), BO = bulbo olfatorio (m = célula mitral), TO = tubérculo olfatorio, Cx = corteza cerebral, CxP = corteza piriforme, CxE = corteza entorrinal, AM = amígdala temporal, NTOL = núcleo del TOL, núcleos cr = cortical, bs = basal, ct = central, md = medial y ll = lateral de la amígdala, Rpo/H = región preóptica/hipotalámica, TH = tálamo (Modificado de Hamilton, 1976).

Las fibras que salen de la corteza piriforme (CxP) se originan de células que se localizan en la parte anterior de ésta, proyectándose caudalmente a través de 2 rutas:  
1) una superficial que termina en la región posterior de la propia CxP y en la corteza



entorrinal (CxE), y 2) una profunda que proyecta a las regiones más internas de las cortezas antes mencionadas y al núcleo amigdaloso lateral y basal. También las neuronas de la CxP proyectan sus fibras a la región lateral del hipotálamo y a la región preóptica vía del haz medial del cerebro anterior. A estas mismas estructuras llegan fibras que se originan del TO (Fig. 6), algunas de las cuales pueden llegar posteriormente hasta el núcleo cortical de la amígdala.

#### *4. Asta o cuerno de Ammon*

El asta de Ammon o hipocampo es una circunvolución cerebral más delgada y simple que la neocorteza, cuyo borde aparece rodeado por una circunvolución más sencilla que el hipocampo llamada fascia dentada o cuerpo abollonado.

El hipocampo se ha dividido en una serie de campos (CA1 a CA4) con base a sus características estructurales y conexiones especiales. Para el caso del sistema olfatorio, las aferencias más importantes al núcleo olfatorio anterior incluyen al campo CA1 del hipocampo, el área entorrinal y la corteza piriforme (Switzer y col., 1985).

#### *Bulbo olfatorio accesorio*

Por lo que concierne al BO accesorio, éste se encuentra formado por el órgano vomeronasal donde están los receptores que proyectan al BO accesorio. La formación olfatoria accesoria en la rata así como en otros roedores, tiene una capa plexiforme interna muy ancha. Dicha capa está formada por una banda de materia blanca, que es el tracto olfatorio lateral y dorsal. Debido al gran tamaño del TOL es probable que la típica capa plexiforme interna del BO sea poco conspicua si es que la hay en esta estructura.

## Células del BO accesorio

Las células del BO accesorio muestran algunas diferencias con respecto a las del BO principal en cuanto a su organización. Los glomérulos olfatorios son más pequeños, las neuronas eferentes análogas a las células mitrales, yacen con la capa plexiforme externa y son más polimórficas en carácter que las mitrales o en penacho del BO principal.

## Conexiones del BO accesorio

Las fibras del tracto olfatorio hacen sinapsis con las células mitrales del BO accesorio, al igual que las fibras del BO principal. Dichas células dan origen a fibras que pasan caudalmente, vía el TOL para terminar en la región posterior del núcleo amigdaloido cortical y posiblemente en el núcleo medial. Las fibras que se originan de estas regiones de la amígdala temporal entran a la estría terminalis y proyectan al área preóptica medial, y al núcleo ventromedial del hipotálamo. Las fibras de la estría terminalis aparentemente proyectan rostralmente para terminar en las células granulares internas del BO accesorio. De este modo se completa un circuito modulador recíproco similar al que existe para el BO principal (Fig. 7).

## Características filogenéticas del juego

El juego como muchos otros componentes del repertorio conductual de distintas especies, ha sufrido importantes modificaciones en su expresión a lo largo de la evolución. Estos cambios se han asociado esencialmente a la expansión que ha tenido el substrato neural del telencéfalo como resultado del establecimiento de los procesos adaptativos impuestos por las demandas medio ambientales.

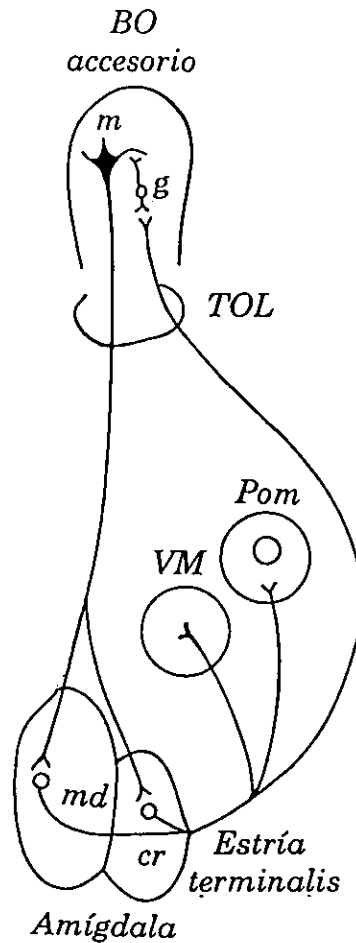


Fig. 7. Conexiones del sistema olfatorio accesorio (m = célula mitral, g = célula granular), TOL = tracto olfatorio lateral, VM = núcleo ventromedial del hipotálamo, Pom = área preóptica media, núcleos md = medial y cr = cortical de la amígdala temporal (Modificado de Hamilton, 1976).

Existen 3 tipos de juego, 1) el más primitivo pudiera ser el locomotor, típico de especies como los reptiles, que viven confinados a espacios restringidos aislados y alejados de los depredadores, 2) el juego con objetos, que sugiere un mayor desarrollo evolutivo, como sería el caso de las tortugas y las aves, 3) finalmente, el juego social entre miembros de un mismo grupo, que es típico de los mamíferos y en los que el juego ha alcanzado una gran versatilidad y refinamiento (Bekoff y Byers, 1981).

El juego de tipo locomotor, que comprende sólo movimiento sin causa u objetivos aparentes, se ha sugerido que es frecuente en especies precociales en las que no existe una gran interacción con la madre, ya que cada sujeto es un adulto en miniatura. Estas especies, al nacimiento, son totalmente independientes como individuos, se alimentan y protegen por sí solas contra los depredadores. Esto último lo hacen a través de permanecer por períodos largos en madrigueras y espacios pequeños, permaneciendo inmóviles para pasar desapercibidos. A la vez, parecen jugar escasamente ya que su metabolismo es muy limitado, de tal suerte que no disponen en todo momento de la energía suficiente para desplegar gran actividad física como sería la requerida para el juego. Por otro lado, la naturaleza no los ha dotado de grandes sistemas sensoriales para interactuar con su medio ambiente, sino más bien para aislarse del mismo. Este tipo de juego no parece requerir de un gran substrato neural, ya que es suficiente un sistema nervioso primitivo extendido hasta el tallo cerebral para asegurar su expresión.

En las especies altriciales o precociales, en las que se establece una profunda interacción con la madre y los recién nacidos, el juego tiene una expresión notable. Es posible que el aprendizaje temprano, la expansión del habitat, el tipo de ontogenia conductual y la riqueza en la comunicación social pudieran promover una notable innovación conductual en estas especies que ha sido esencial en la evolución del juego de los vertebrados.

El juego social no es exclusivo de los mamíferos ya que se presenta desde los reptiles, por lo tanto en el cerebro de los mamíferos como en el de otras especies debe haber circuitos involucrados en su regulación. De diversos estudios se ha propuesto que el juego es un elemento distintivo que separaría a los mamíferos de los reptiles, posiblemente coincidiendo con el desarrollo del sistema límbico. Aunque la participación de este último sistema parece ser esencial para la expresión del juego, la existencia del juego con objetos en los reptiles como la tortuga y del juego locomotor y

con objetos en las aves donde sólo hay rudimentos del sistema límbico, parecería negar que este último fuera indispensable para que el juego se manifieste (Siviy, 1998). El juego con objetos que se ve por ejemplo en las tortugas, pudiera ser el precursor del juego social de tipo riña, más versátil y refinado, de los mamíferos. Por lo tanto podría anticiparse que en sus orígenes evolutivos, el juego pudiera residir en regiones cerebrales que ancestralmente han precedido al sistema límbico. En este sentido se ha propuesto que los ganglios basales podrían ser el substrato esencial para la expresión del juego pre-límbico, dado su carácter definido en los reptiles. Los ganglios basales por lo tanto, serían esenciales para la ejecución de los movimientos involucrados en el juego con objetos. Apoya esta hipótesis el hecho de que la 6 hidroxidopamina administrada neonatalmente para lesionar las neuronas de los ganglios basales, afecte también la expresión del juego en la rata juvenil (Pellis y col., 1993). Cabe esperar que entre estos 2 tipos de juego, existen pasos evolutivos que involucran finalmente al sistema límbico para convertir a esta actividad en un patrón conductual extremadamente versátil y refinado como el que se observa en los mamíferos.

## Definición del juego

Actualmente son numerosas las propuestas para definir el juego. No hay una definición satisfactoria de éste, ya que se ha descrito que es más fácil describirlo que definirlo. La dificultad para definirlo estriba en que sus propósitos no son fácilmente reconocidos, ya que es una actividad que no es privativa de los mamíferos, sino también se dá en otras especies. En el caso de los mamíferos, se ha descrito que no se obtiene ningún beneficio inmediato a consecuencia del juego, sin embargo, algunos de los patrones motores que se manifiestan durante el juego se asemejan a los utilizados por el sujeto en un contexto funcional propositivo (Bekoff, 1972; Martin y Caro, 1985).

El carácter no propositivo del juego parece ser la norma en el juego de tipo locomotor. Sin embargo, el animal por medio de él logra ajustar el tono muscular, y prepararse para la expresión de una actividad de desplazamiento motora o de cambio postural (Bekoff y Byers, 1981).

Por otro lado el juego con objetos y el juego social son actividades volitivas y propositivas, que son fuente de experiencia creativa y adaptativa. En efecto, se ha dicho, que el juego le permite al sujeto por una parte disfrutar y obtener placer al jugar con un objeto o con un compañero de juego en forma voluntaria. Por la otra, al llevarlo a cabo, el sujeto adquiere destrezas y habilidades de movimiento que tienen como fin práctico el desarrollo físico y la adaptación a las demandas del entorno presente y futuro (Bekoff y Byers, 1981).

Se ha propuesto, que en los mamíferos la definición de juego debe incluir 5 características fundamentales: el beneficio funcional del sujeto por vía del ejercicio físico, perfeccionamiento de habilidades no sociales, destreza en las habilidades sociales (incluyendo relaciones competitivas asociadas con actividades sociales), incremento en el desarrollo del sistema nervioso central e innovación conductual (Bekoff y Byers, 1981; Burgard, 1988).

### Conducta social del juego

A pesar de que la conducta de juego es un componente fundamental del repertorio conductual de los mamíferos y de que existen amplias descripciones del juego en la literatura, el análisis detallado de tipo ontogenético y psicobiológico que de él se tiene es aún rudimentario (Aldis, 1975). En este sentido, aún está poco claro cuál pudiera ser la participación que tiene el juego para el establecimiento de la conducta social futura en los miembros de una determinada especie. Este aspecto tiene

particular relevancia práctica cuando se le enmarca en el estudio del desarrollo de la conducta social normal del hombre y del impacto negativo de sus aberraciones en la interacción social dentro de una comunidad particular.

La conducta social de juego de la rata en desarrollo constituye uno de los mejores modelos animales para el estudio de las pautas conductuales del juego. En los últimos años este modelo ha permitido precisar cómo, a través del análisis del desarrollo de esta conducta, es posible conocer acerca de su influencia en el crecimiento corporal, en el cerebro y su funcionamiento a largo plazo y en las interacciones sociales, sexuales y de agresión con sus congéneres (van den Berg, 1999). La primera descripción detallada del juego en la rata proviene del trabajo clásico de Small realizado en 1899. Esta conducta también se ha estudiado detalladamente en los ciervos por Müller-Schwarze (1966). Por otro lado, se han identificado las diferencias que se establecen en el juego relacionadas con el sexo de la rata por la participación de los andrógenos durante etapas críticas del desarrollo (Olioff y Stewart, 1978). Mediante el empleo de un enfoque etológico, se han descrito en las ratas alrededor de 15 diferentes componentes en las secuencias del juego, lo cual da una idea de lo complejo que es el estudio de este patrón conductual (Poole y Fish, 1976). A partir de diversos estudios se ha sugerido que una secuencia de juego podría iniciarse con la percepción, por parte de un sujeto, de una serie de señales o patrones de conducta sencillos y discretos emitidos por un congénere que podrían incluir el olfateo de la región anogenital y de otras regiones del cuerpo, el aseo social dirigido a los congéneres, tirar zarpazos, empujar, recargarse o montarse sobre otro sujeto y el boxeo que en su conjunto constituirían la denominada "motivación o invitación a jugar" (Thor y Holloway, 1983). Una vez que se ha desencadenado el juego, éste puede cuantificarse midiendo diferentes componentes del mismo, o bien a través del registro de algunos de sus parámetros más frecuentes y confiables como puede ser el encimamiento de un sujeto sobre el otro (Panksepp y Beatty, 1980). Asimismo, se puede cuantificar a través del análisis de una triada que se observa

frecuentemente durante el juego. Esta está constituida por el encimamiento, la lucha y el boxeo tanto entre parejas como en grupos de animales que se observa durante una sesión de juego (Loranca y col., 1996; Loranca, 1997; Loranca y col., 1999). En el presente trabajo se empleará la medición de esta triada conductual para evaluar los efectos de la manipulación temprana del sentido del olfato sobre el desarrollo de la conducta social de juego.

### Substrato neural de la conducta del juego

El conocimiento que se tiene acerca de los circuitos neurales que gobiernan la conducta de juego deriva fundamentalmente de experimentos de lesión de zonas discretas del cerebro. De este modo se conoce que la lesión del septum o del BO principal, incrementan la frecuencia y la motivación del juego (Beatty y col., 1982; Beatty y Costello, 1983). La lesión del núcleo parafascicular del tálamo, o de las áreas talámicas posterior o ventrobasal, provocan un decremento de la frecuencia de juego y de su motivación, pero inexplicablemente en el caso de la lesión del complejo ventrobasal, este efecto desaparece en el curso de pocos días (Siviy y Panksepp, 1987). Por otra parte, la lesión del cíngulo, de la corteza rinal y la frontal de la cara medial de los hemisferios cerebrales provoca un decremento de la frecuencia del juego y un aumento en la capacidad de defensa para el juego rudo por parte del sujeto lesionado durante la interacción con sus congéneres (Pellis y col., 1992).

No obstante que se dispone del conocimiento de los efectos provocados por las influencias antes señaladas sobre el desarrollo del juego, actualmente es escasa la información acerca del impacto provocado por la privación parcial o por el exceso de estimulación olfatoria neonatal sobre el desarrollo de esa conducta en una especie macrosmática como la rata. En estudios previos sugerimos que esta actividad en la rata desnutrida por privación de alimento y de estímulos sensoriales durante la etapa



neonatal, mostraba alteraciones significativas en la expresión de los parámetros conductuales del juego, probablemente relacionadas con un retardo en el desarrollo y en el ingreso de señales auditivas, visuales y somestésicas (Escobar y Salas, 1988; Loranca y col., 1996; Loranca, 1997). Brevemente, en esos estudios se describió que en los animales desnutridos el inicio del juego se retrasaba, se incrementaba la lucha y el encimamiento, sin cambios importantes en el boxeo, tanto en el juego de parejas como en el de tipo grupal. Asimismo, el incremento del juego era mayor en las hembras que en los machos, mayor durante el inicio de la sesión de juego y en el juego del período prepuberal comparado con el del postpuberal (Loranca, 1997; Loranca y col., 1996, 1999). Sin embargo, en estos estudios no fue posible identificar con precisión el efecto de la privación sensorial sobre la maduración de cada uno de estos sistemas y por consiguiente en la expresión de los parámetros conductuales del juego. Se ha descrito que el juego es una conducta en la que participan todos los sistemas sensoriales, pero en la literatura poco se conoce de la participación de cada uno de ellos. Considerando que la rata es una especie macrosmática y que el canal olfatorio pudiera ser el más importante para el desarrollo de varias actividades entre ellas el juego, en el presente trabajo se evaluó la participación de dicho canal, manipulando el ingreso de estímulos olfatorios.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los antecedentes mencionados muestran que el canal olfatorio es la principal vía de ingreso sensorial de los roedores, y que se conoce poco acerca de las repercusiones que tiene la manipulación del ingreso olfatorio durante etapas críticas del desarrollo sobre la conducta de juego. Basados en estos hallazgos, en el presente estudio se caracterizaron algunos de los componentes de la conducta de juego en ratas a las que se les redujo unilateralmente el ingreso de estímulos olfatorios al BO, o bien se les expuso a un exceso de estímulos olfatorios durante el período predestete. Los conocimientos que se puedan obtener manipulando el canal olfatorio, podrían ser de gran utilidad para entender la importancia de esta vía sensorial en el desarrollo de la conducta de juego en una especie altricial como la rata.

## HIPÓTESIS

En el presente estudio se propone que el desarrollo de algunos de los componentes de la conducta social de juego, puede trastornarse tanto por la privación parcial como por el exceso en el ingreso de la información olfatoria, ocurridas durante etapas críticas del desarrollo cerebral. De este modo, se anticipa que:

a) Dado que la lesión de los BO aumenta la frecuencia y la motivación del juego, se espera que la privación parcial olfatoria producida por la termocauterización de uno de los poros nasales de la rata recién nacida incrementará el juego.

b) Mientras que el efecto contrario a la privación parcial olfatoria que sería el exceso de estimulación olfatoria bilateral diaria hasta antes del destete, reducirá la frecuencia de la conducta de juego.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Generar conocimiento acerca de los mecanismos neurales que participan en el desarrollo de la conducta social de juego durante etapas críticas de la ontogenia neural. Este conocimiento puede ser de gran utilidad para comprender la organización, funcionamiento y las posibles alteraciones en el desarrollo de la conducta social en la rata.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Caracterizar las posibles alteraciones en el desarrollo físico del animal y en el crecimiento y la función del BO en ratas con privación unilateral crónica o con un exceso de estimulación olfatoria.
2. Caracterizar el desarrollo de la conducta social de juego en ratas de ambos sexos, sometidas a la privación crónica y parcial o al exceso de estimulación olfatoria durante el período predestete.
3. Identificar la posible jerarquía de las alteraciones en el desarrollo de los componentes de la conducta social de juego en la rata, que resulten del trastorno temprano en el funcionamiento del canal olfatorio en una especie macrosmática como la rata.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Animales

Los sujetos que se emplearon en este estudio se obtuvieron de ratas primíparas de la variedad Wistar (*Rattus norvegicus*) nacidas en el bioterio del Centro de Neurobiología de la UNAM. Estos animales fueron la descendencia de un pie de cría adquirido originalmente del proveedor "Harlan Sprague Dawley" (Indianapolis, IN, USA). Las ratas pesaron entre 200-250 g y se confinaron para su cría en cajas de acrílico transparente (50 x 40 x 20 cm), en grupos de 6 hembras y 2 machos con agua y alimento (chow de Purina) *ad libitum*. Dos o tres días antes de la fecha estimada del parto, las ratas embarazadas se separaron de los grupos de cría y se colocaron en cajas individuales de maternidad de plástico transparente (45 x 30 x 20 cm) con rejillas metálicas como tapas. El día del parto se consideró como el día 0 de la vida postnatal. Dentro de las 24 h postparto las crías de ambos sexos de las hembras que parieron el mismo día se redistribuyeron al azar, de tal manera que cada camada constara de 4 crías hembras y 4 machos. Todas las ratas se mantuvieron en ciclos de 12 h de luz y 12 h de oscuridad (luces encendidas a las 0800 h), en un cuarto con aire acondicionado mantenido a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  y entre 40 y 50% de humedad. Los animales se destetaron en el día 25 de edad y se separaron por sexo en el día 30 postnatal, colocando 4 ratas del mismo sexo en una caja de plástico transparente (45 x 30 x 20 cm), para que continuaran su crecimiento con libre acceso al agua y al alimento y en las mismas condiciones de crianza medio ambientales antes mencionadas.

Para llevar a cabo el estudio se obtuvieron los siguientes grupos de animales:

(Grupo <b>CONTROL)</b>	<b>Controles</b> sin manipulaciones experimentales	Hembras (n=32) Machos (n=32)
---------------------------	---	---------------------------------

(Grupo <b>CTP)</b>	<b>Controles con Termocauterización Paranasal</b>	Hembras (n=32) Machos (n=32)
(Grupo <b>ETPN)</b>	<b>Experimentales con Termocauterización de un Poro Nasal</b>	Hembras (n=32) Machos (n=32)
(Grupo <b>CONTROL)</b>	<b>Controles sin manipulaciones experimentales</b>	Hembras (n=32) Machos (n=32)
(Grupo <b>CsEOL)</b>	<b>Controles con simulación de Estimulación Olfatoria Libre</b>	Hembras (n=32) Machos (n=32)
(Grupo <b>EEOL)</b>	<b>Experimentales con Estimulación Olfatoria Libre</b>	Hembras (n=32) Machos (n=32)

Los 32 animales de cada sexo en cada una de los grupos experimentales antes mencionados, se distribuyeron en 8 grupos de 4 sujetos cada uno, por lo tanto se obtuvo una **N=8** grupos, ya que la conducta de juego se analizó en grupos de 4 animales como más adelante se describe.

Para comprobar las hipótesis propuestas, en el presente trabajo los datos de los grupos experimentales se compararon como a continuación se describe:

**EXPERIMENTO 1** (*Termocauterización de un poro nasal*) CTP vs ETPN

**EXPERIMENTO 2** (*Estimulación olfatoria libre*) CsEOL vs EEOL

**SECCION 1** (*Termocauterización paranasal*) CTP vs CONTROL

**SECCION 2** (*Simulación de estimulación olfatoria libre*) CsEOL vs CONTROL

En el caso de las mediciones de los BO de 30 y 70 días de edad, éstas se obtuvieron de otros animales con los mismos tratamientos para cada condición experimental.

El desarrollo físico de las crías se evaluó a través del registro del peso corporal cada 5 días (días 1 al 30 postparto) y en los días 40, 50, 60 y 70 de edad. Con el mismo propósito se registró el día en el que ocurrió la apertura total de los conductos auditivos externos (días 9 al 16 de edad) y de los párpados (días 13 al 19 postparto). Entre los días mencionados ocurre normalmente la maduración en cada una de las vías sensoriales.

#### Procedimiento para la termocauterización de un poro nasal (Experimento 1)

Para la privación unilateral del olfato en los sujetos del grupo ETPN, se empleó un procedimiento relativamente sencillo descrito por Meisami (1976), que aparentemente no produce daño químico o mecánico a la mucosa olfatoria como ocurre con otros procedimientos utilizados (ver Jeffrey, 1974). El procedimiento consistió en colocar a las crías de 3 días de edad en un congelador a  $-18^{\circ}\text{C}$  por 4 min con el propósito de inducir anestesia general por congelación. Bajo este tipo de anestesia se tomó a la cría con una mano exponiendo frontalmente su región facial. Enseguida, se colocó suavemente la punta roma (2 mm de largo) de un estilete de hierro (1 mm de grosor), calentado al rojo vivo, sobre uno de los poros nasales para provocar termocauterización de la zona anterior de la mucosa nasal (Fig. 8). El área quemada (aproximadamente  $3\text{ mm}^2$ ) se limpió suavemente con solución salina y se colocó en ella una pequeña gota de cemento de contacto ahulado (Contac Todo, Three Bond de México) para prevenir una posible hemorragia. Enseguida, se dejó recuperar a las crías manteniéndolas calientes bajo una lámpara encendida (75W) colocada a 50 cm de ellas por una hora, antes de ser regresadas con su madre al nido. Para los propósitos del presente estudio se dispusieron camadas mixtas de 8 crías (4 hembras y 4 machos), lesionándose en cada caso a la mitad de la camada. A las crías experimentales se les aplicó cada tercer día 20,000 UI de penicilina G cristalina (Laboratorios Lakeside, S. A.) por vía intramuscular, (diluida en 0.5 ml de solución salina) durante una semana para

prevenir infecciones. Debido a la alta mortalidad que el método provoca en la rata de pocas horas de nacida, se escogió la edad de 3 días que reduce al mínimo la mortalidad de las crías (Meisami, 1976). De acuerdo a la extensión que tienen los epitelios pseudoestratificado, respiratorio y olfatorio que revisten de fuera hacia adentro las cavidades nasales en la rata de 3 días de edad (Gross y col., 1982), calculamos el área de la punta del estilete que cauterizó el poro nasal de la rata y hemos estimado que la termocauterización lesionó la mayor parte del epitelio pseudoestratificado y una mínima porción del epitelio respiratorio, dejando intacta la mucosa olfatoria.

De acuerdo con nuestra experiencia, normalmente el tejido cicatrizal de la zona termocauterizada ya es visible al día siguiente de la lesión. Este tejido en regeneración provoca un cierre completo del poro nasal en el curso de 6 a 8 días. Así que al final de la segunda semana de edad la observación del poro nasal con un microscopio de disección o con la ayuda de una lupa, indica un cierre total del orificio nasal, que incluso en los días siguientes se ve cubierto por el vello perinasal. Bajo estas condiciones se evitó el ingreso de estímulos olfatorios por el poro nasal ocluido.

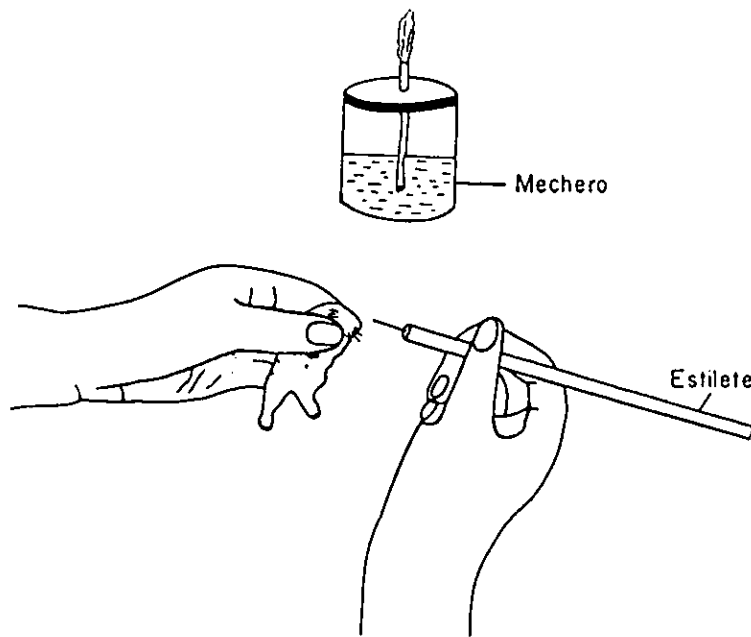


Fig. 8. Posición de un sujeto experimental y dispositivo empleado para producir privación olfatoria unilateral por termocauterización.

El grupo CTP estuvo conformado por sujetos en los cuales la termocauterización se realizó en la superficie cutánea dorsal de una fosa nasal. Dicha manipulación experimental también la realizamos en ratas de 3 días de edad, siguiendo el mismo protocolo arriba mencionado, tanto para la anestesia como para la termocauterización y recuperación de los animales. Los animales del grupo CONTROL fueron aquellos que no recibieron ninguna manipulación experimental, que permanecieron durante los primeros 25 días de edad con la madre en el nido, excepto para la verificación de su desarrollo físico y los registros del juego como en el caso de los sujetos del resto de los grupos experimentales.

#### Procedimiento de estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo (Experimento 2)

Para obtener a los sujetos del grupo EEOL, se depositó en una caja de Petri de vidrio (10 cm de diámetro) colocada en el piso de un desecador, también de vidrio transparente de 6.25 litros de capacidad y 25 cm de diámetro (sistema de inhalación estático), 84  $\mu$ l de una solución de acetato de amilo (FOB, Sigma – 99% de pureza) mediante el uso de una jeringa Hamilton. Inmediatamente se introdujeron a 4 crías, colocándolas sobre una malla fina de alambre ubicada a 10 cm por encima del fondo del desecador, cerrando y sellando la tapa del mismo con grasa siliconada (Fig. 9). Las crías permanecieron en el desecador durante 10 min al día a temperatura ambiente (23°C); esta manipulación se realizó del día 3 al 19 de edad (0900-1100 h) para evitar interferir con los registros de la conducta de juego. Con base en un estudio piloto, hemos determinado por cromatografía de gases, que durante los 10 min que dura la exposición de las crías a la sustancia odorable, la concentración de la misma tomando alícuotas de 1 ml en fase de gas a diferentes tiempos (1, 4, 8 y 12 min) se incrementa en forma gradual, alcanzando su máximo valor al final de la prueba (2 partes por millón, 2 ppm). El dispositivo de vidrio que se describe, sólo se empleó para la exposición de



las crías a la sustancia odorable. Terminada la exposición de las crías al acetato de amilo, el desecador se limpió con agua y jabón y se secó empleando el flujo de aire de un ventilador. La razón por la que se emplea en este trabajo el acetato de amilo, es que de acuerdo a estudios previos emite un fuerte olor a plátano y además las ratas que se han expuesto a esta sustancia durante el período perinatal muestran un cambio en su citoarquitectura neuronal, caracterizado por un incremento en el área dendrítica de las neuronas mitrales (Panhuber y Laing, 1987). Terminada la estimulación olfatoria se dejó recuperar a las crías por 20 min en una caja con cama de aserrín, bajo el calor generado por una lámpara (75W), y posteriormente se regresaron a su jaula de crianza.

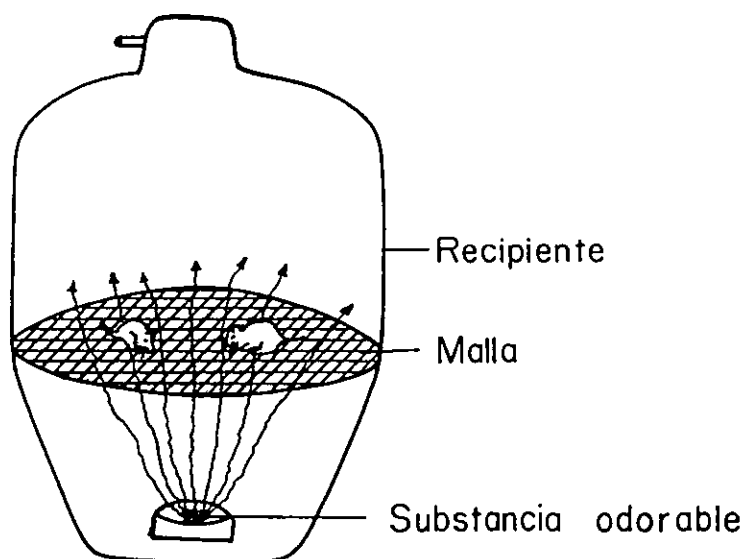


Fig. 9. Dispositivo utilizado para la estimulación olfatoria con acetato de amilo o para la exposición de las crías al aire puro.

Las ratas del grupo CsEOL se colocaron dentro del recipiente de estimulación (n=4) por 10 min sin exponerlas a ningún olor particular, sino al aire fresco del desecador. Después de la exposición al aire limpio, las crías del grupo CsEOL también se colocaron durante 20 min en una caja con aserrín bajo el calor producido por una lámpara (75W) y se regresaron después a su jaula de crianza. El dispositivo de vidrio

que se utilizó para la exposición de las crías al aire fresco, sólo se empleó para tratar así a este grupo experimental en particular. En el caso de las crías de los grupos EEOL y CsEOL, los desecadores se ubicaron en el interior de una campana de extracción (3.5 X 3.5 X 0.70 mt) con flujo de aire lento. Esta maniobra evitó la difusión de los gases provenientes de los desecadores hacia otros animales y hacia el medio ambiente circundante del laboratorio.

### Prueba de olfacción

Con el propósito de verificar la capacidad de olfacción de los sujetos de los grupos experimentales ETPN (Experimento 1) o de aquéllos del grupo EEOL (Experimento 2), con sus respectivos controles con simulación experimental y de los controles sin ninguna manipulación experimental, se llevó a cabo una prueba de olfacción en el día 30 ó 70 de edad. La prueba permitió evaluar la habilidad del sujeto experimental para localizar alimento principalmente a través del uso de la vía olfatoria.

La prueba consistió en retirar el alimento de la jaula 6 h antes de la prueba (1000 h). Posteriormente, se colocó a la rata en un recipiente de plástico limpio (26 X 45 X 15 cm) con cama de aserrín de aproximadamente 10 cm de profundidad. Se le dejó 3 min para adaptarse y enseguida, la rata se sacó del recipiente y se depositó en éste un cuarto de galleta (Oreo, Nabisco, S. A. de C. V.) oculto entre la cama de aserrín. Se regresó a la rata al recipiente por un período de 5 min, anotándose si ésta encontró el fragmento de galleta y además se midió el tiempo que le llevó el obtenerla (Edwards y Davis, 1997). Esta prueba se realizó con la finalidad de indagar si las manipulaciones experimentales a las que se sometió a los animales (cauterización de un poro nasal y estimulación olfatoria tempranas), provocaron alguna alteración principalmente en la capacidad olfatoria que pudiese correlacionarse con cambios en el desarrollo de alguno de los componentes del juego aquí analizados.

## Evaluación macroscópica de los BO

En el presente estudio se hizo una observación macroscópica de los BO a los 30 ó 70 días de edad (días en los que la conducta social de juego alcanza sus valores máximo y mínimo respectivamente), con el propósito de detectar en los animales de los 2 grupos experimentales (lesionados y estimulados) cambios en la longitud, anchura y en el peso húmedo de los BO. En estudios realizados previamente, a los 8 días después de la termocauterización de un poro nasal ya son evidentes los efectos sobre el peso y el tamaño del BO ipsilateral a la termocauterización de un poro nasal (atrofia), siendo más ostensibles las diferencias a los 30 y 60 días de edad (Meisami, 1976).

Se midieron cada uno de los BO de 8 animales de cada condición experimental y sexo. Para tal propósito se sacrificó a los sujetos con un exceso de éter anestésico (Droguería Cosmopolita, S. A.) y posteriormente con la ayuda de una gubia pequeña se removió la parte del cráneo que cubre los BO, e inmediatamente se colocó a los sujetos en un aparato estereotáxico para rata marca Kopf, modelo 900. Enseguida, se procedió a medir el largo y el ancho de cada uno de los BO mediante el uso de una varilla metálica sujeta a la torre del estereotáxico, que se desplazaba en los 3 ejes del mismo empleando las escalas milimétricas tridimensionales del aparato. Finalmente, se removieron los BO y se les tomó su peso húmedo mediante el empleo de una balanza digital marca Mettler, modelo AE 163.

## Registro y evaluación de la conducta de juego

Para los propósitos del estudio, la conducta social de juego se filmó con una videocámara marca Sony, modelo SLV-X511, de 8 mm iluminando el ambiente con una lámpara que emitía luz roja (70W) colocada a 60 cm de distancia de los animales. Este nivel bajo de iluminación, permite un buen registro de la conducta y a la vez reduce el

nivel de estrés de los animales que se da cuando se usa luz blanca. Las pruebas se llevaron a cabo en la última fase del ciclo de luz (1600-1800 h), que por estudios previos se sabe es uno de los mejores momentos para su registro, debido a que es cuando las ratas muestran una mayor actividad de juego (Panksepp y Beatty, 1980). Para el registro conductual se utilizó un cilindro de plástico transparente (39 cm de diámetro X 40 cm de altura X 1.0 mm de grosor), provisto de una cama de aserrín de 3 cm de altura que hace más comfortable la actividad de movimiento y colocando el cilindro dentro de una cámara sonoamortiguada (3.50 X 3.10 X 2.40 mt) ubicada dentro del área del laboratorio que minimiza diversos distractores a los animales (Fig. 10).

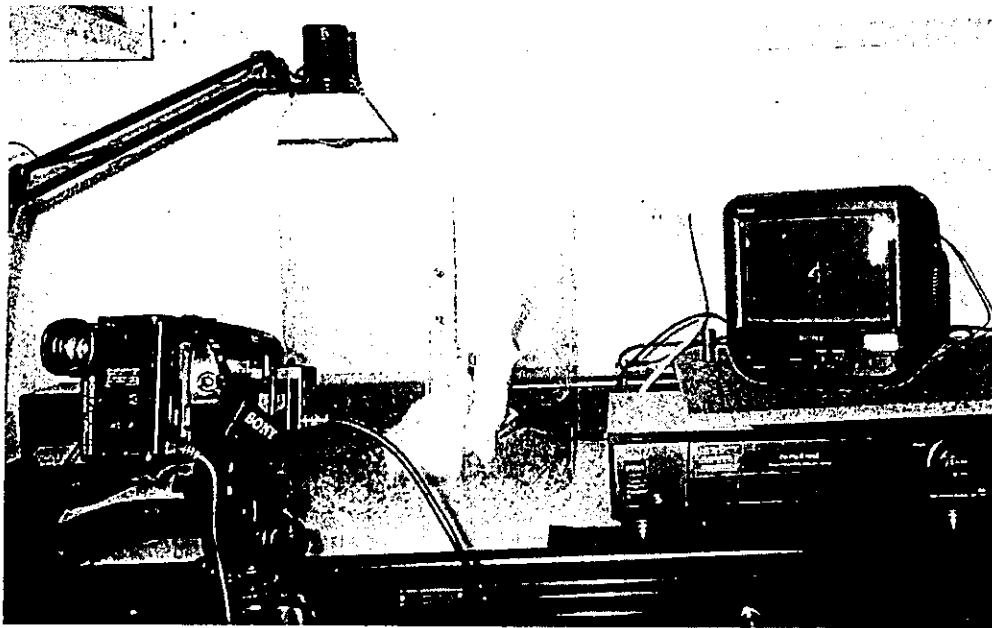


Fig. 10. Dispositivo utilizado para los registros de la conducta de juego.

Las pruebas de la conducta social de juego se realizaron en los días 20, 25, 30, 40, 50, 60 y 70 de edad, llevándose a cabo de la siguiente manera: los miembros de cada uno de los grupos se aislaron 20 h antes del registro (de las 2000 h de un día a

las 1600 h del día siguiente), en una caja de plástico transparente individual (29 X 17 X 12 cm) con agua y alimento *ad libitum* (el aislamiento de la rata incrementa la motivación por el juego; Panksepp y Beatty, 1980). El aislamiento se llevó a cabo colocando las cajas con cada animal en un estante metálico, ubicado dentro de un cuarto sonoamortiguado (3.50 X 3.10 X 2.40 mt) a  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$  anexo a la cámara de registro. Posteriormente, se colocaron 4 hembras ó 4 machos de cada una de las condiciones experimentales en el cilindro de plástico transparente y se grabó la conducta social de juego durante 5 min. Por estudios previos de nuestro grupo, se sabe que la conducta de juego es más frecuente durante los primeros 5 min de la prueba y por tal motivo ésta tuvo esa duración (Loranca, 1997).

La evaluación de la conducta social de juego se realizó posteriormente mediante la observación de las grabaciones en cámara lenta, en una videograbadora marca Sony, modelo SLV-X511 en la que se midió la frecuencia del boxeo, la lucha y el encimamiento que son los componentes que con mayor frecuencia se presentan durante el juego (Meaney y Stewart, 1981). Estos parámetros se definieron como sigue:

- a) Boxeo: dos animales permanecen en posición erecta, moviendo frente a frente sus miembros anteriores en actitud de golpearse (Fig. 11, A).
- b) Lucha: dos o más ratas ruedan forcejeando en el piso (Fig. 11, B).
- c) Encimamiento: una o más ratas se enciman sobre otra y la que permanece sumisa forcejea para poder escapar (Fig. 11, C).

Con la finalidad de identificar si el juego entre machos o hembras es similar cuando éste ocurre durante el juego entre 2 sujetos (parejas) o entre más de 2 sujetos (conjunto), así como si el juego que se presenta durante el período prepuberal es diferente al postpuberal, el patrón de juego se clasificó como juego de pareja o de

conjunto, prepuberal (días 20, 25 y 30 postparto) o postpuberal (días 50, 60 y 70 de edad).

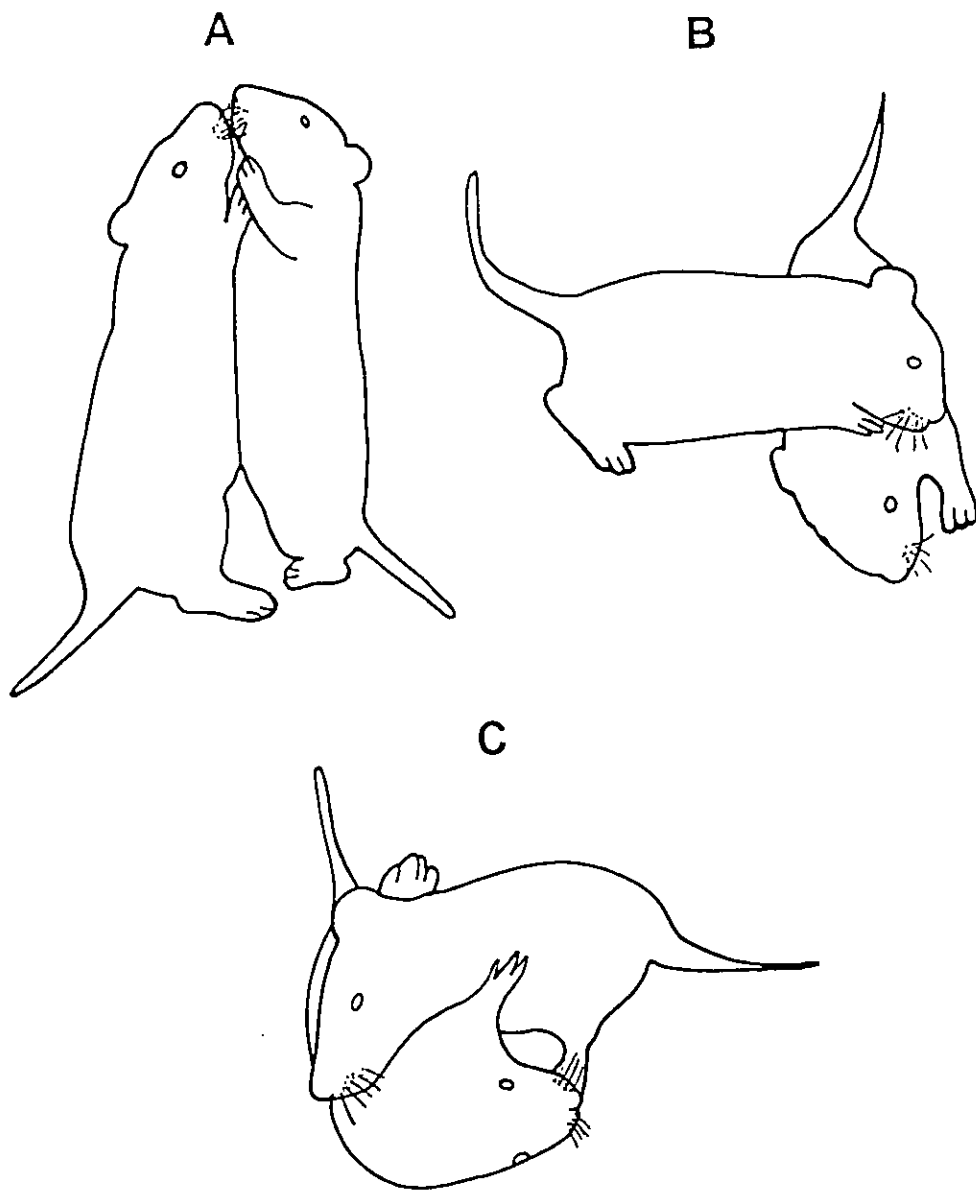


Fig. 11. Parámetros conductuales que se utilizaron para evaluar el juego social en la rata, boxeo (A), lucha (B) y encimamiento (C). Ver texto para mayor descripción de cada parámetro conductual.

Con el propósito de evaluar el grado de conducta afiliativa entre los sujetos como parte de la interacción social, además de la cuantificación de los parámetros y de los tipos de juego mencionados, también se analizaron el número de contactos aplicados en diferentes partes del cuerpo de los sujetos. Los contactos se definieron de la siguiente manera:

- 1) Contactos a la nuca. Un animal hizo contacto con su hocico en la nuca de otro animal.
- 2) Contactos a los flancos. Un sujeto hizo contacto con sus dos miembros anteriores en los flancos de otro sujeto.
- 3) Contactos a la pelvis. Un sujeto hizo contacto con su hocico en la parte trasera de otro animal.
- 4) Contactos en el dorso. Uno o varios sujetos hicieron contacto con su cuerpo en el dorso de otro u otros sujetos.

Los contactos se cuantificaron sólo durante los intervalos del registro donde no se presentaron los parámetros conductuales del juego. Los contactos en el dorso también se clasificaron en pareja (CP) y en conjunto (CC), ya que para el caso de los demás tipos de contactos registrados, éstos sólo se presentaron entre parejas.

### Análisis estadístico

Los datos que se obtuvieron en los sujetos de cada uno de los experimentos para evaluar el desarrollo físico, la conducta de juego, el largo, el ancho y el peso

húmedo de los BO y la capacidad de olfacción, se analizaron mediante el empleo del paquete estadístico SYSTAT, versión 7.0.

La comparación de los valores correspondientes a la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados se realizó empleando pruebas de Chi cuadrada. La comparación de los pesos corporales de 2 (condiciones experimentales) X 10 (edades), el largo, el ancho y el peso húmedo de los BO de 2 (condiciones experimentales) X 2 (edades) se evaluó con el empleo de análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas.

La comparación de cada uno de los parámetros de la conducta de juego de 2 (condiciones experimentales) X 7 (edades) X 2 (tipos de juego, de pareja y conjunto) en cada uno de los experimentos y secciones, se llevó a cabo mediante el empleo de análisis de varianza multifactoriales (MANOVA) de medidas repetidas. De la misma manera se compararon cada uno de los contactos corporales. La comparación del juego prepuberal y postpuberal también se realizó con un ANOVA de 2 factores. Finalmente se realizaron pruebas post hoc de Tukey.

Los datos obtenidos de las pruebas de olfacción fueron analizados con la prueba de U de Mann-Whitney, debido a que en esta prueba se designó un lapso de tiempo fijo para que la rata encontrara el estímulo oloroso.

En todas las comparaciones que se llevaron a cabo el nivel mínimo de significancia se estableció en  $\alpha = 5\%$ .



## RESULTADOS

### EXPERIMENTO 1

#### Termocauterización de un poro nasal

La parte del estudio que fue dedicada al análisis de los efectos de la privación en el ingreso olfatorio a través de la oclusión un poro nasal, en general mostró deficiencias significativas con respecto al grupo control con termocauterización paranasal (CTP), sobre el desarrollo físico y la maduración de algunos componentes de la conducta social de juego.

#### *Efectos de la privación unilateral del olfato sobre el desarrollo físico*

##### Hembras

A lo largo del experimento el peso corporal de las hembras fue significativamente diferente para los factores condición experimental,  $F(1,62)=115.77$ ,  $p=0.0001$ ; y edad,  $F(9,558)=6310.57$ ,  $p=0.01$ . Asimismo, para las interacciones entre los dos factores edad x condición experimental,  $F(9,558)=31.86$ ,  $p=0.01$ . De acuerdo al análisis post hoc las hembras del grupo experimental con termocauterización de un poro nasal (ETPN), mostraron una reducción significativa en su peso corporal en comparación con las del grupo CTP, en los días **40, 50, 60 y 70** de edad (Fig. 12, A).

##### Machos

El peso corporal de los machos fue estadísticamente diferente para la condición experimental,  $F(1,62)=106.91$ ,  $p=0.0001$ ; para la edad,  $F(9,558)=6037.06$ ,  $p=0.01$  y para la interacción entre los factores edad x condición experimental,  $F(9,558)=38.52$ ,  $p=0.01$ . Al igual que en las hembras el peso corporal disminuyó significativamente en el grupo ETPN con respecto a los del grupo CTP, estas diferencias fueron significativas de acuerdo al análisis post hoc en los días **30, 40, 50, 60 y 70** de edad (Fig. 12, B).

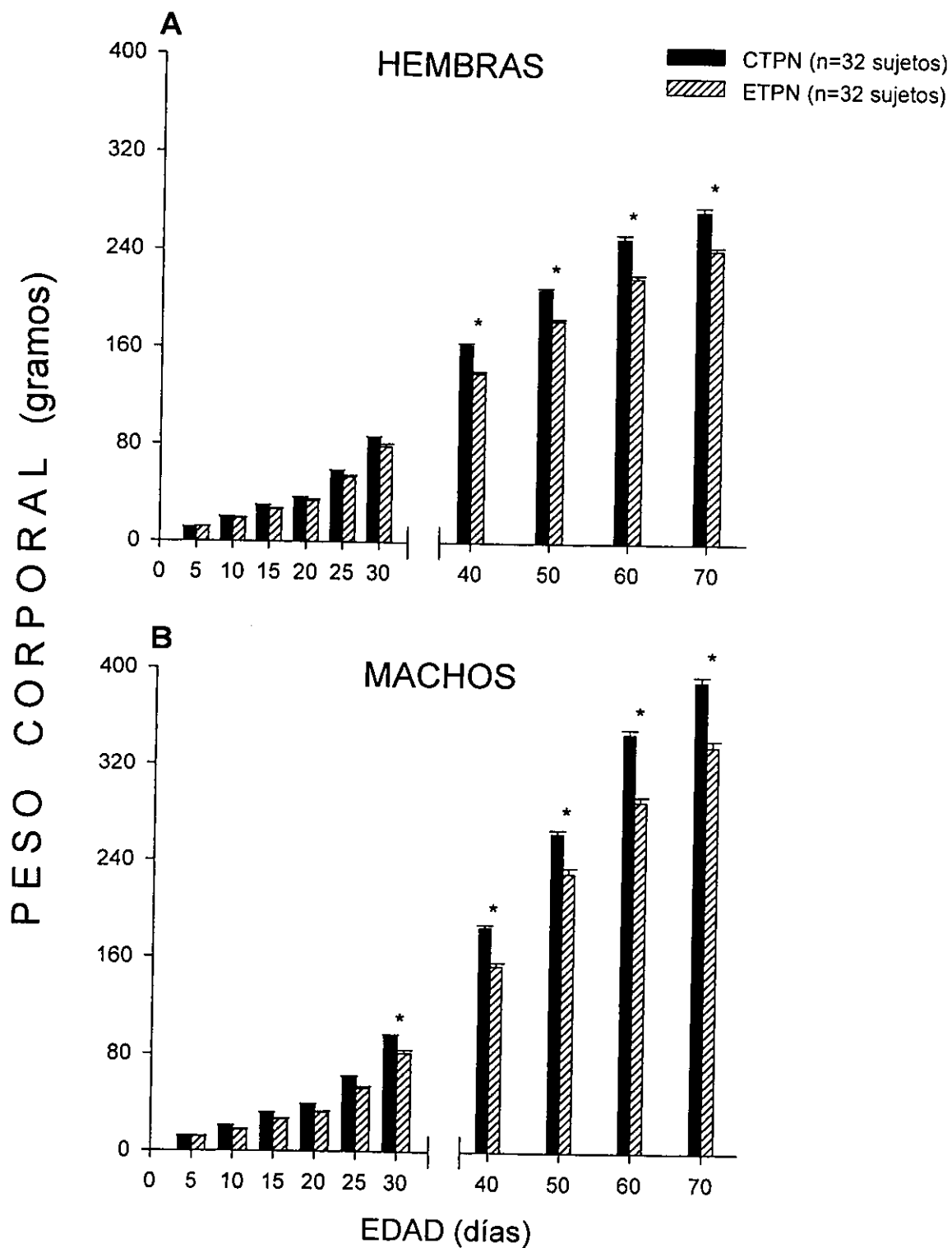


Fig. 12. Pesos corporales de sujetos control con termocauterización paranasal (CTP) y cauterizados de un poro nasal (ETPN) de ambos sexos durante el desarrollo. Los valores se expresan en medias  $\pm$  error estándar. El análisis estadístico indicó una reducción significativa (\*) en el peso corporal de los sujetos ETPN de ambos sexos con respecto a los del grupo CTP.

En relación a la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados se encontró que las hembras del grupo ETPN, mostraron retardos significativos ( $p < 0.05$ ) en la apertura tanto de los conductos auditivos externos (días 15, 16 y 17 de edad; Fig. 13, A), como de los párpados (días 16, 17 y 18 postparto) en comparación con las del grupo CTP (Fig. 13, B). Por lo que concierne a los machos cauterizados de un poro nasal, éstos presentaron retardos significativos ( $p < 0.05$ ) en comparación con los del grupo CTP, en la apertura de los conductos auditivos externos en los días 15, 16 y 17 de edad (Fig. 13, C), y en la apertura de párpados en los días 16, 17 y 18 postparto (Fig. 13, D). Resumiendo los hallazgos obtenidos, la privación unilateral de estímulos olfatorios, está asociada a retardos en la apertura de conductos auditivos externos y párpados en hembras y machos.

*Efectos de la privación unilateral del olfato sobre el desarrollo de los componentes del juego*

## BOXEO

### Hembras

En cada uno de los distintos parámetros del juego se obtuvieron incrementos significativos en los sujetos privados parcialmente del ingreso olfatorio con respecto a los del grupo CTP. En el caso del boxeo en las hembras, la frecuencia de este parámetro fue significativamente diferente para la condición experimental,  $F(1,14)=21.20$ ,  $p=0.0004$  y para la edad,  $F(6,84)=10.97$ ,  $p=0.0001$ , pero no para la interacción entre estos dos factores. La comparación de la frecuencia de este componente mediante análisis post hoc, no indicó diferencias significativas en las hembras del grupo ETPN con respecto a las del grupo CTP en ninguno de los días de registro (Fig. 14, A).

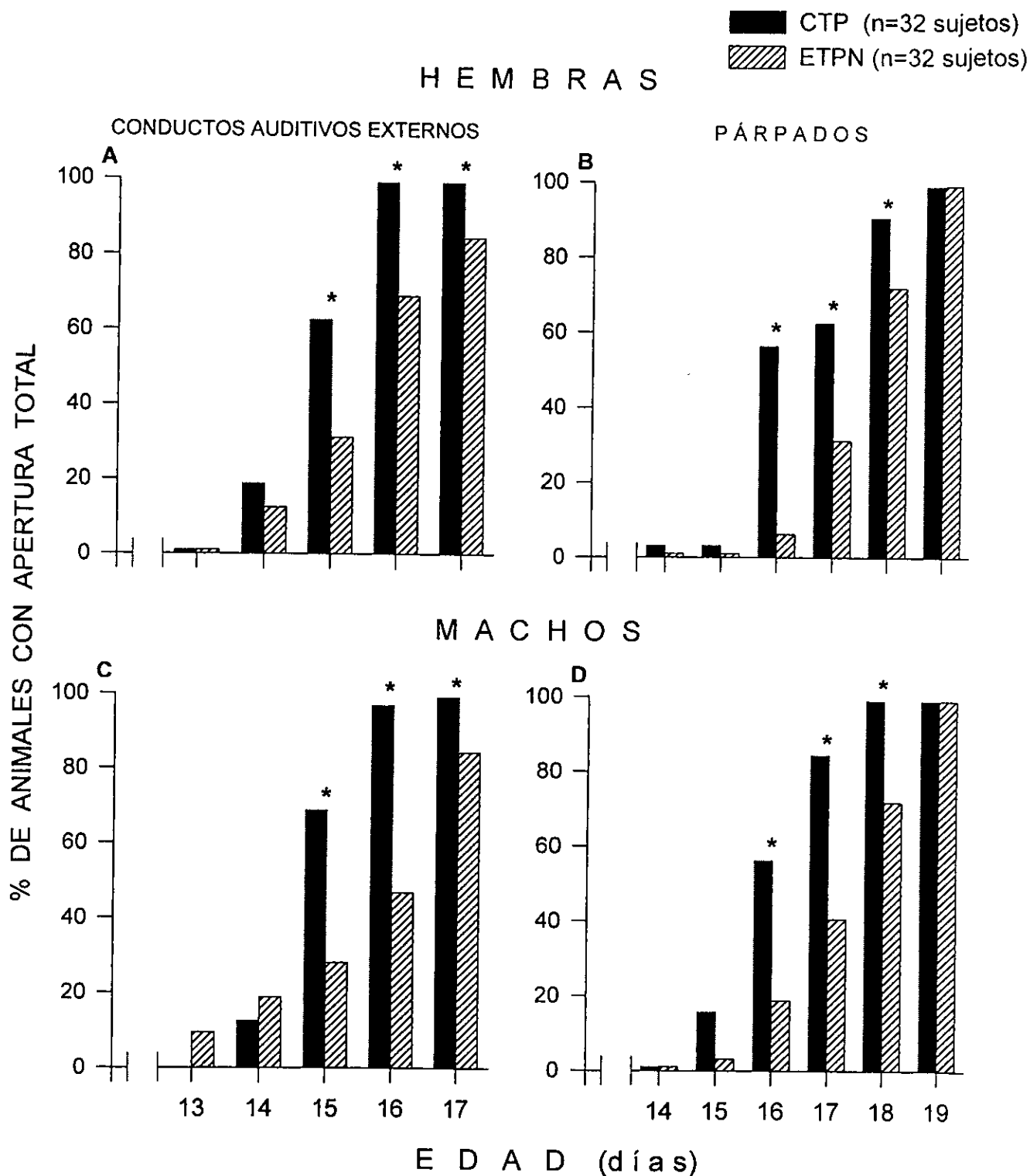


Fig. 13. Porcentaje de animales de ambos sexos con apertura total de los conductos auditivos externos (izquierda) y de los párpados (derecha). En ambos casos los sujetos termocauterizados de un poro nasal (ETPN), mostraron un retardo en dichas aperturas con respecto a los del grupo control con termocauterización paranasal (CTP), tanto en hembras A y B como en machos C y D. El análisis estadístico indicó, diferencias significativas en los machos y en las hembras (\*).

## Machos

Con respecto al boxeo en los machos también se obtuvieron diferencias significativas para la condición experimental,  $F(1,14)=20.54$ ,  $p=0.0004$  y para la edad,  $F(6,84)=6.70$ ,  $p=0.0001$ , pero no para la interacción entre estos dos factores. Para este sexo la frecuencia del boxeo fue significativamente mayor en los sujetos del grupo ETPN con respecto a los del grupo CTP. De acuerdo al análisis post hoc las diferencias fueron significativas sólo en el día **30** de edad (Fig. 14, B).

## LUCHA

### Hembras

Para este parámetro conductual, el análisis estadístico indicó diferencias significativas para la condición experimental,  $F(1,14)=5.20$ ,  $p=0.039$ ; el tipo de juego,  $F(1,14)=10.37$ ,  $p=0.006$  y la edad,  $F(6,84)=109.23$ ,  $p=0.01$ . Asimismo, para las interacciones entre la edad x la condición experimental,  $F(6,84)=2.29$ ,  $p=0.042$ ; tipo de juego x edad,  $F(6,84)=85.72$ ,  $p=0.01$  y para la condición experimental x tipo de juego x edad,  $F(6,84)=2.60$ ,  $p=0.022$ . La frecuencia de la lucha en las hembras del grupo ETPN se incrementó significativamente con respecto a las del grupo CTP de acuerdo al análisis post hoc en el día **30** de edad únicamente en el juego de pareja (Fig. 15, A).

### Machos

La frecuencia de la lucha en los machos, no fue estadísticamente diferente para la condición experimental en ambos tipos de juego (pareja y conjunto), pero sí para la edad,  $F(6,84)=90.49$ ,  $P=0.01$  y para la interacción entre la edad x tipo de juego,  $F(6,84)=66.23$ ,  $p=0.0001$ . Sin embargo, la frecuencia de este parámetro tendió a ser mayor en los sujetos del grupo ETPN cauterizados con respecto a los del grupo CTP (Fig. 15, B).

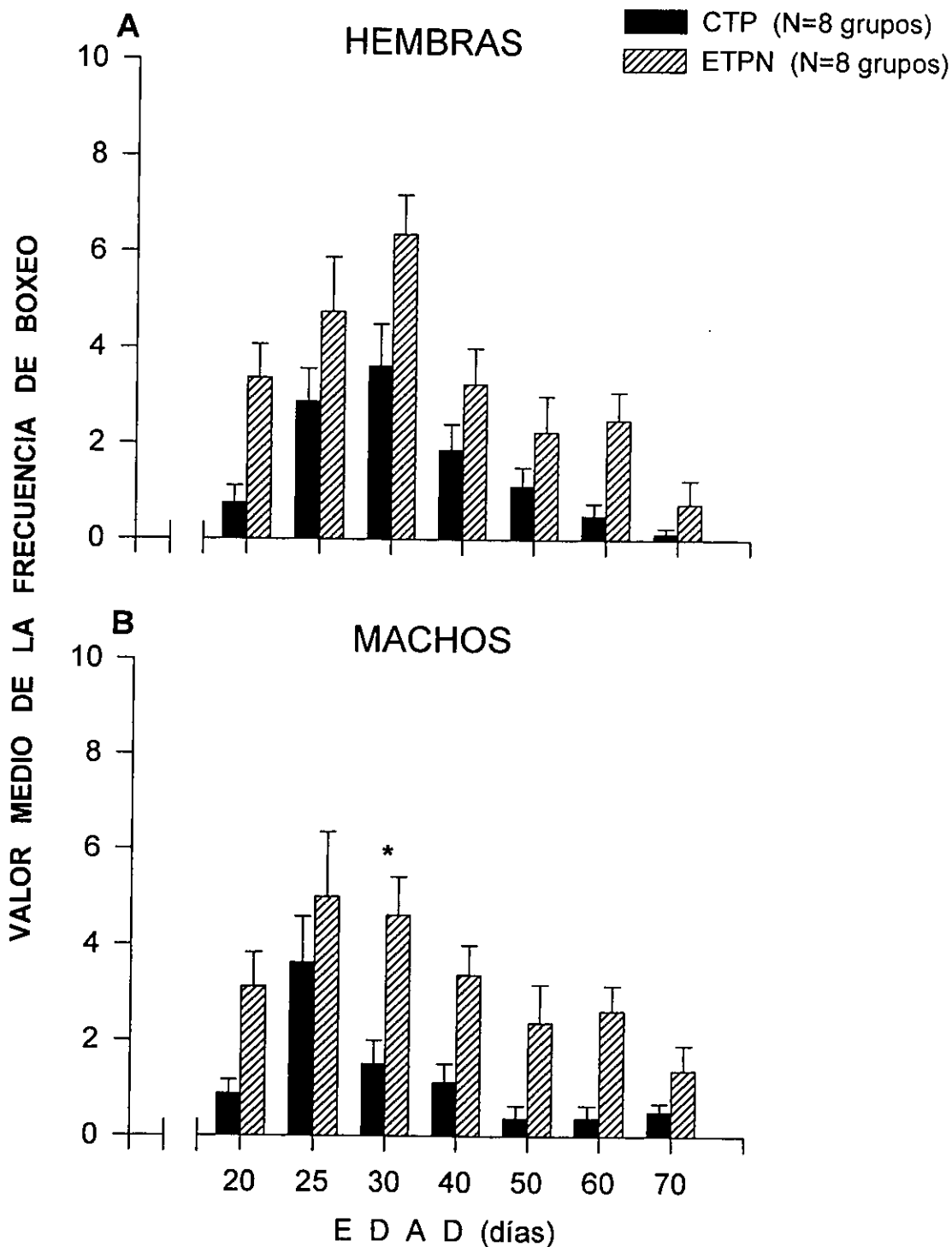


Fig. 14. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia del boxeo en hembras (A) y machos (B). Nótese que dicho parámetro sólo se incrementó significativamente (\*) en los machos termocauterizados de un poro nasal (ETPN) con respecto a los del grupo control con termocauterización paranasal (CTP), específicamente en el día 30 de edad.

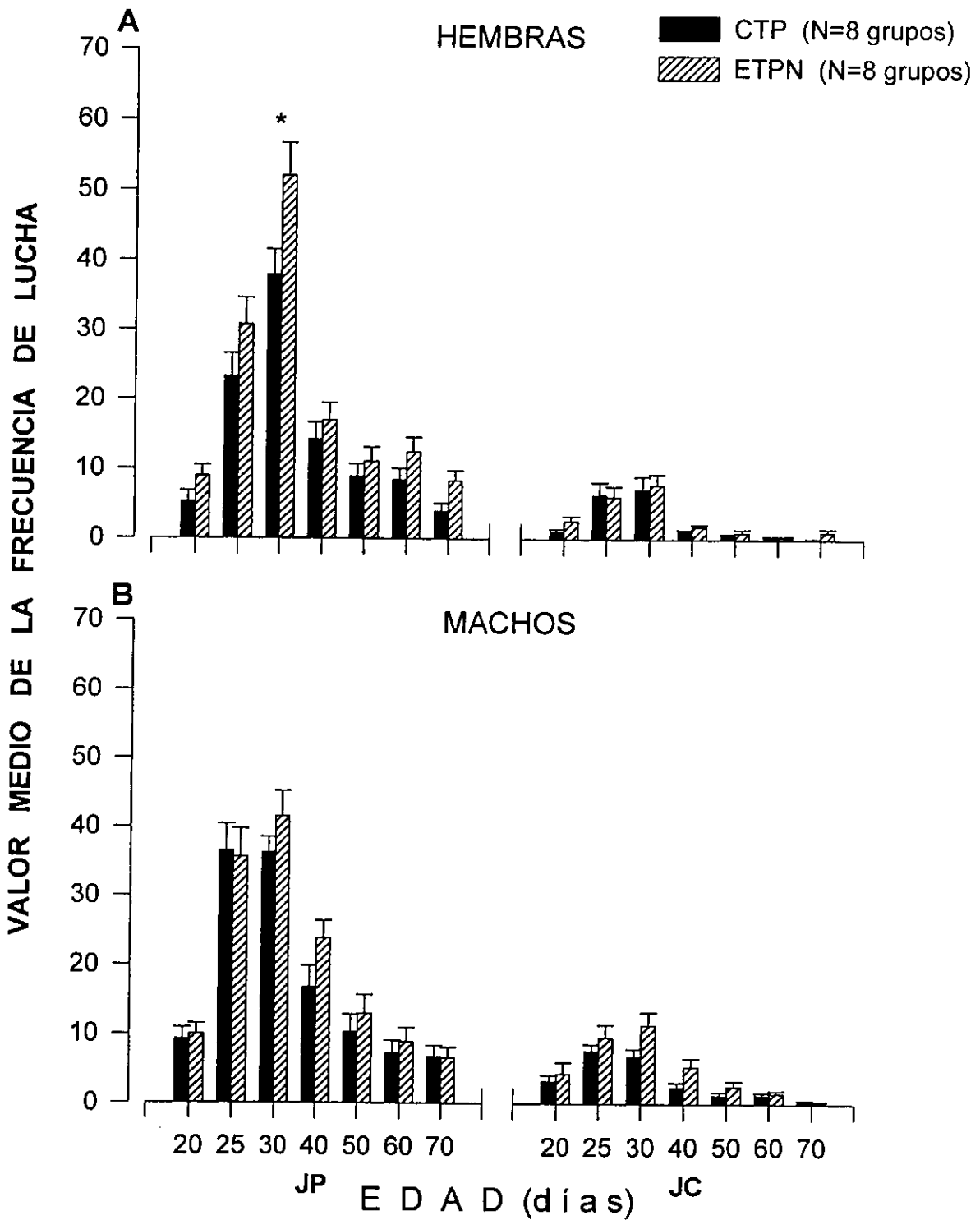


Fig. 15. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia de la lucha en ratas hembras (A) y machos (B), durante el juego de pareja (JP) y de conjunto (JC). Nótese que en este parámetro la frecuencia se incrementó significativamente (\*) sólo en las hembras termocauterizadas de un poro nasal (ETPN) vs las controles con termocauterización paranasal (CTP), en el día 30 de edad en el JP.

## ENCIMAMIENTO

### Hembras

Con respecto al encimamiento se obtuvieron diferencias significativas en los siguientes factores: condición experimental,  $F(1,14)=11.93$ ,  $p=0.003$ ; tipo de juego,  $F(1,14)=4.86$ ,  $p=0.04$  y edad,  $F(6,84)=107.96$ ,  $p=0.01$ , así como para las interacciones edad x condición experimental,  $F(6,84)=4.12$ ,  $p=0.001$ ; edad x tipo de juego,  $F(6,84)=106.75$ ,  $p=0.01$  y para la condición experimental x edad x tipo de juego  $F(6,84)=6.35$ ,  $p=0.0001$ .

Al igual que en el boxeo, la frecuencia del encimamiento también fue significativamente mayor en las hembras del grupo ETPN con respecto a las del grupo CTP. El análisis post hoc indicó diferencias significativas en los días, **25** y **30** de edad en el juego de pareja; y en el día **30** de edad en el juego de conjunto (Fig. 16, A).

### Machos

La frecuencia con la que se presentó el encimamiento en los machos fue significativamente diferente para la edad,  $F(6,84)=70.22$ ,  $p=0.0001$ . Así como para las interacciones edad x condición experimental,  $F(6,84)=7.19$ ,  $p=0.0001$  y tipo de juego x edad,  $F(6,84)=23.01$ ,  $p=0.0001$ .

El análisis post hoc no indicó diferencias significativas en el juego de pareja. Sin embargo, para el juego de conjunto sí, en el día **30** de edad siendo más frecuente el encimamiento en los sujetos del grupo ETPN con respecto a los del grupo CTP (Fig. 16, B).



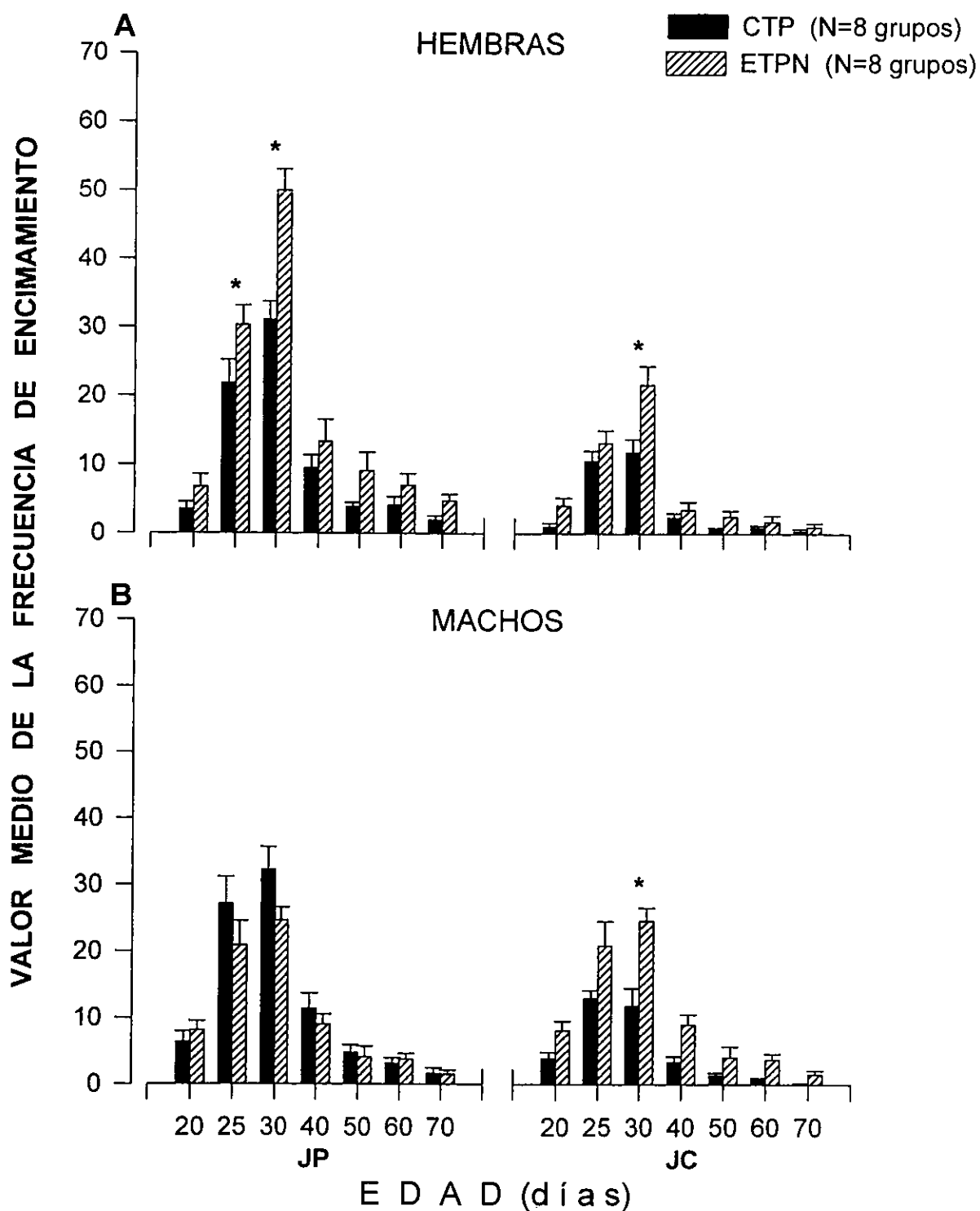


Fig. 16. Valores medios  $\pm$  errores estándar de la frecuencia de encimamiento en ratas hembras (A) y machos (B), durante el juego de pareja (JP) y de conjunto (JC). El encimamiento fue significativamente mayor (\*) en los sujetos termocauterizados de un poro nasal (ETPN). En el caso de las hembras en los días 25 y 30 en el JP y en el día 30 de edad en el JC. Sin embargo, en los machos las diferencias significativas se presentaron solamente en el día 30 de edad en el JC.

### *Efectos de la privación unilateral del olfato sobre el desarrollo de los componentes del juego total durante el período prepuberal y postpuberal*

Tomando en cuenta que la ciclicidad sexual se inicia en la pubertad, justo cuando la frecuencia de los parámetros conductuales del juego alcanzan sus mayores puntajes. Asimismo, que los cambios endocrinológicos que ocurren en la pubertad pueden participar en la expresión del juego, se realizó la comparación estadística del total del juego ocurrido durante el período prepuberal y el que se presenta en la etapa postpuberal.

Los resultados mostraron diferencias significativas con respecto a la condición experimental, sin considerar el sexo y el tipo de juego, los sujetos del grupo ETPN jugaron con mayor frecuencia que los del grupo CTP en ambas etapas: prepuberal,  $F(1,31)=29.27$ ,  $p=0.0001$  y postpuberal,  $F(1,31)=10.95$ ,  $p=0.003$  (Fig. 17, A). En cuanto al sexo, sin considerar la condición experimental y el tipo de juego, también se obtuvieron diferencias significativas los machos jugaron más que las hembras, dicha diferencia fue significativa sólo en la etapa prepuberal,  $F(1,31)=4.91$ ,  $p=0.035$  (Fig. 17, B). También se realizó la comparación con respecto al tipo de juego (pareja y conjunto) sin considerar los otros factores, obteniéndose que el juego en pareja fue significativamente mayor con respecto al de conjunto en ambas etapas: prepuberal,  $F(1,31)=491.52$ ,  $p=0.0001$  y postpuberal,  $F(1,31)=125.27$ ,  $p=0.0001$  (Fig. 17, C). Finalmente, se realizó la comparación estadística en cuanto a la etapa relacionada con la pubertad (prepuberal vs postpuberal), obteniéndose que el juego durante la etapa prepuberal fue significativamente mayor con respecto al que se presentó en la etapa postpuberal,  $F(1,31)=312.62$ ,  $p=0.0001$ , al igual que los casos anteriores no se consideraron los demás factores, condición, sexo y tipo de juego (Fig. 17, D).

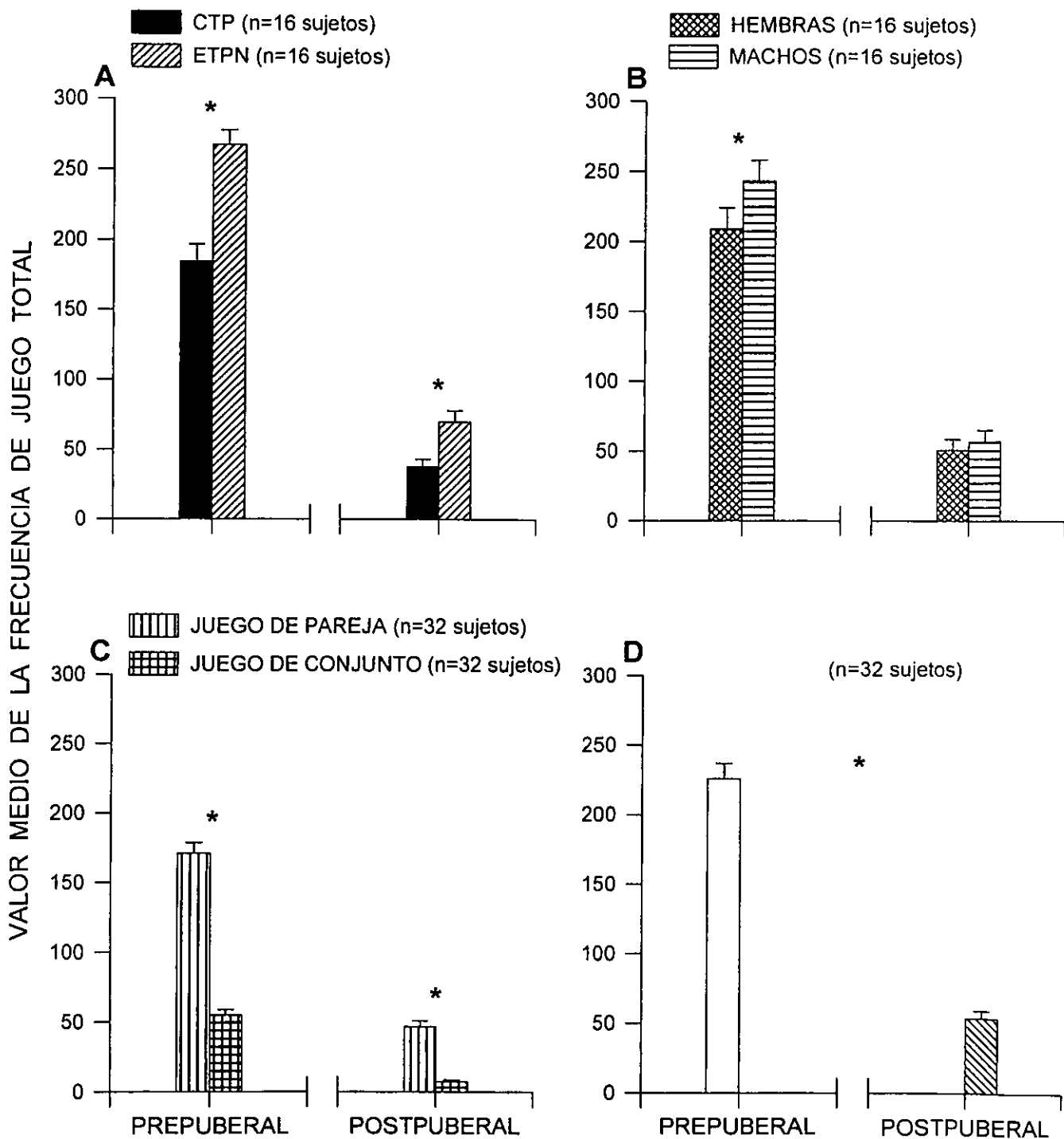


Fig. 17. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia del juego total (boxeo, lucha y encimamiento) de diferentes sujetos durante las etapas pre y postpuberal, con respecto a la condición experimental (A), al sexo (B), al tipo de juego (C) y al período peripuberal (D). Las diferencias significativas (\*), muestran un incremento en la frecuencia del juego en los sujetos cauterizados, en los machos, en el juego de pareja y en general el que se presenta durante la etapa prepuberal.

*Efectos de la privación unilateral del olfato sobre el desarrollo de los contactos físicos recibidos durante los períodos interjuego*

El análisis de los contactos físicos entre los sujetos, recibidos en las regiones de la nuca, los flancos, la pelvis y el dorso registrados durante los intervalos interjuego, se muestran en la Tabla 1.

Los resultados del análisis post hoc mostraron que los contactos en la **nuca** no fueron significativamente diferentes en ninguno de los días de registro en los sujetos de ambos sexos (Fig. 18, A y B). Con respecto a los contactos en los **flancos**, éstos se presentaron con mayor frecuencia en los sujetos del grupo ETPN con respecto a los del grupo CTP, en el caso de las hembras las diferencias fueron significativas en los días **25** y **30** de edad (Fig. 18, C) y en los machos en los días **30** y **40** de edad (Fig. 18, D). Los contactos en la **pelvis** en el caso de las hembras del grupo ETPN se presentaron significativamente con menor frecuencia con respecto a las del grupo CTP, sólo en el día **40** de edad, (Fig. 18, E). En el caso de los machos la frecuencia de los contactos en la pelvis también se presentó con menor frecuencia en los sujetos del grupo ETPN en los días **25**, **30**, **50** y **60** de edad (Fig. 18, F).

Los contactos en el **dorso** fueron más frecuentes en los sujetos del grupo ETPN con respecto a los del grupo CTP. El análisis post hoc indicó que las diferencias fueron significativas en el caso de las hembras en los días **20** y **40** de edad en los contactos en pareja (Fig. 19, A) y en los machos en los días **40**, **50** y **70** de edad también en los contactos en pareja (Fig. 19, B). Sin cambios significativos para los contactos en conjunto.

Tabla 1. Resultados del análisis estadístico (MANOVA) de los contactos ocurridos en 4 regiones del cuerpo durante los períodos interjuego, en sujetos control con termocauterización paranasal y experimentales con termocauterización de un poro nasal.

		HEMBRAS			MACHOS		
		gl	F	p	gl	F	p
<b>NUCA</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	15.25	0.001*	(1,14)	0.01	0.909
	EDAD	(6,84)	7.07	0.0001*	(6,84)	4.04	0.001*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6, 84)	1.09	0.424	(6,84)	0.52	0.789
<b>FLANCOS</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	9.43	0.008*	(1,14)	22.68	0.0003*
	EDAD	(6,84)	6.34	0.0001*	(6,84)	3.30	0.005*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	2.53	0.026*	(6,84)	1.90	0.089
<b>PELVIS</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	17.42	0.0009*	(1,14)	32.50	0.0001*
	EDAD	(6,84)	4.44	0.0005*	(6,84)	3.24	0.006*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	1.00	0.425	(6,84)	4.39	0.0006*
<b>DORSO</b> (PAREJA)	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	9.22	0.009*	(1,14)	2.79	0.117
	EDAD	(6,84)	3.82	0.002*	(6,84)	10.58	0.0001*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	2.65	0.021*	(6,84)	3.27	0.006*
<b>(CONJUNTO)</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	0.01	0.984	(1,14)	19.79	0.001*
	EDAD	(6,84)	36.55	0.0001*	(6,84)	10.81	0.0001*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	2.35	0.037*	(6,84)	1.22	0.302

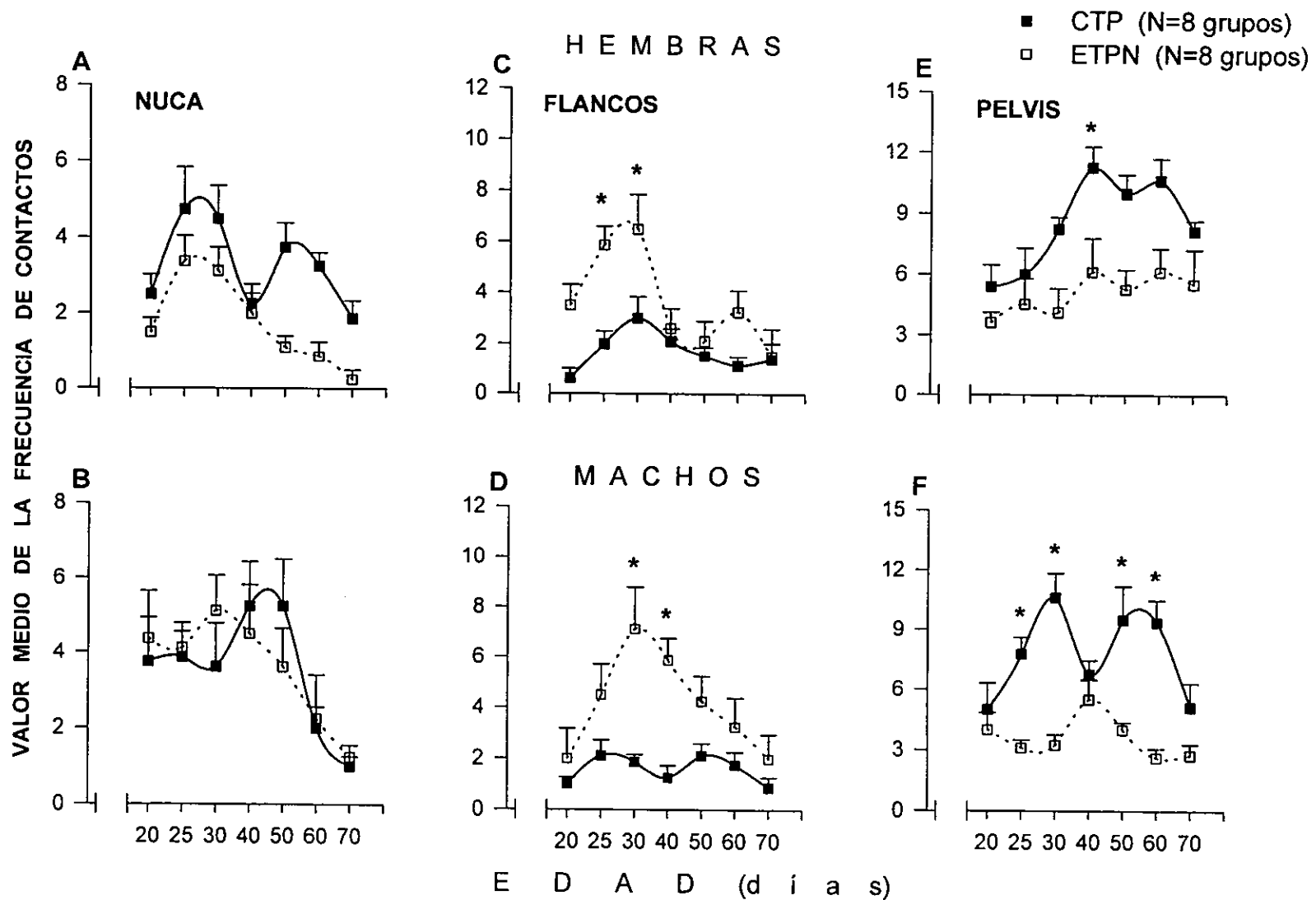


Fig. 18. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia de contactos en la nuca (A y B), flancos (C y D) y pelvis (E y F) en ratas de ambos sexos. En el caso de los contactos en la nuca y en la pelvis la frecuencia de éstos fue menor en los sujetos termocauterizados de un poro nasal (ETPN) con respecto a los controles con termocauterización paranasal (CTP), sin embargo, la frecuencia de los contactos en los flancos fue mayor en los sujetos ETPN, estas diferencias fueron significativas en algunos de los días del registro (\*).

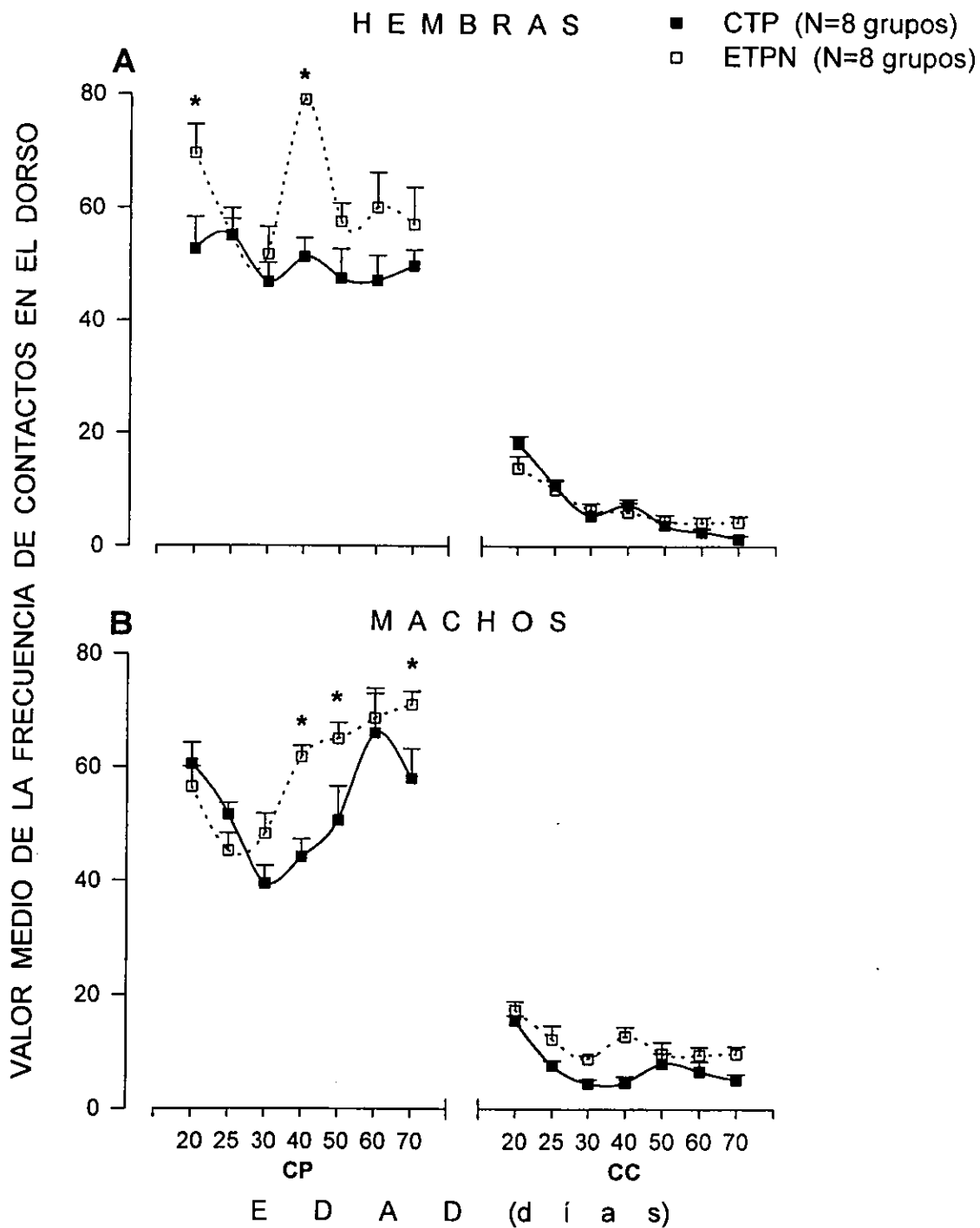


Fig. 19. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia de contactos en el dorso en hembras (A) y machos (B). Los contactos se presentaron con mayor frecuencia en los sujetos termocauterizados de un poro nasal (ETPN) con respecto a sus controles con termocauterización paranasal (CTP), las diferencias fueron significativas (\*) en las hembras en los días 20 y 40 y en los machos en los días 40, 50 y 70 de edad cuando los contactos se dieron en parejas (CP).

### *Efectos de la oclusión de un poro nasal sobre la capacidad de olfacción*

Como se mencionó en la metodología, las pruebas de olfacción sólo se realizaron en los días 30 y 70 de edad. Los resultados obtenidos de las comparaciones entre grupos, indicaron que sólo en la prueba del día **30** hay latencias significativamente prolongadas ( $p=0.010$ ) en los machos del grupo ETPN, con respecto a los del grupo CTP (Fig. 20, B). El hallazgo sugiere que por lo tanto éstos pudieran tener alterada su capacidad de olfacción a los **30** días postparto.

### *Efectos de la termocauterización de un poro nasal sobre el largo, ancho y el peso húmedo de los BO*

En cuanto al largo, ancho y peso húmedo de los BO de sujetos de 30 y 70 días de edad, también se obtuvieron diferencias significativas. En estos sujetos se realizaron comparaciones de los BO del lado termocauterizado *versus* los contralaterales. Los BO del lado opuesto a la termocauterización se consideraron como sus propios controles. Se obtuvo que los BO del lado cauterizado fueron significativamente más pequeños con respecto a los BO contralaterales, en los sujetos de **30** días de edad para el caso de las hembras las diferencias fueron en el **largo**,  $F(1,14)=4.14$ ,  $p=0.05$ ; **ancho**,  $F(1,14)=4.50$ ,  $p=0.05$  y en el **peso húmedo**,  $F(1,14)=5.02$ ,  $p=0.042$  y en los machos sólo en el **ancho** de los BO,  $F(1,14)=7.73$ ,  $p=0.015$  (Fig. 21, A, B y C).

También se compararon los BO de diferentes ratas, es decir los BO de ratas del grupo ETPN vs los de ratas del grupo CTP; en este caso el decremento significativo de los BO del lado termocauterizado con respecto a los del grupo CTP, se obtuvo en el **largo**,  $F(1,14)=14.29$ ,  $p=0.002$  y **peso húmedo**,  $F(1,14)=18.53$ ,  $p=0.001$  de los BO de las hembras, y también en el **largo**,  $F(1,14)=5.96$ ,  $p=0.028$ , **ancho**,  $F(1,14)=5.12$ ,  $p=0.040$  y **peso húmedo**,  $F(1,14)=7.03$ ,  $p=0.019$  de los BO de los machos (Fig. 21, D, E y F).



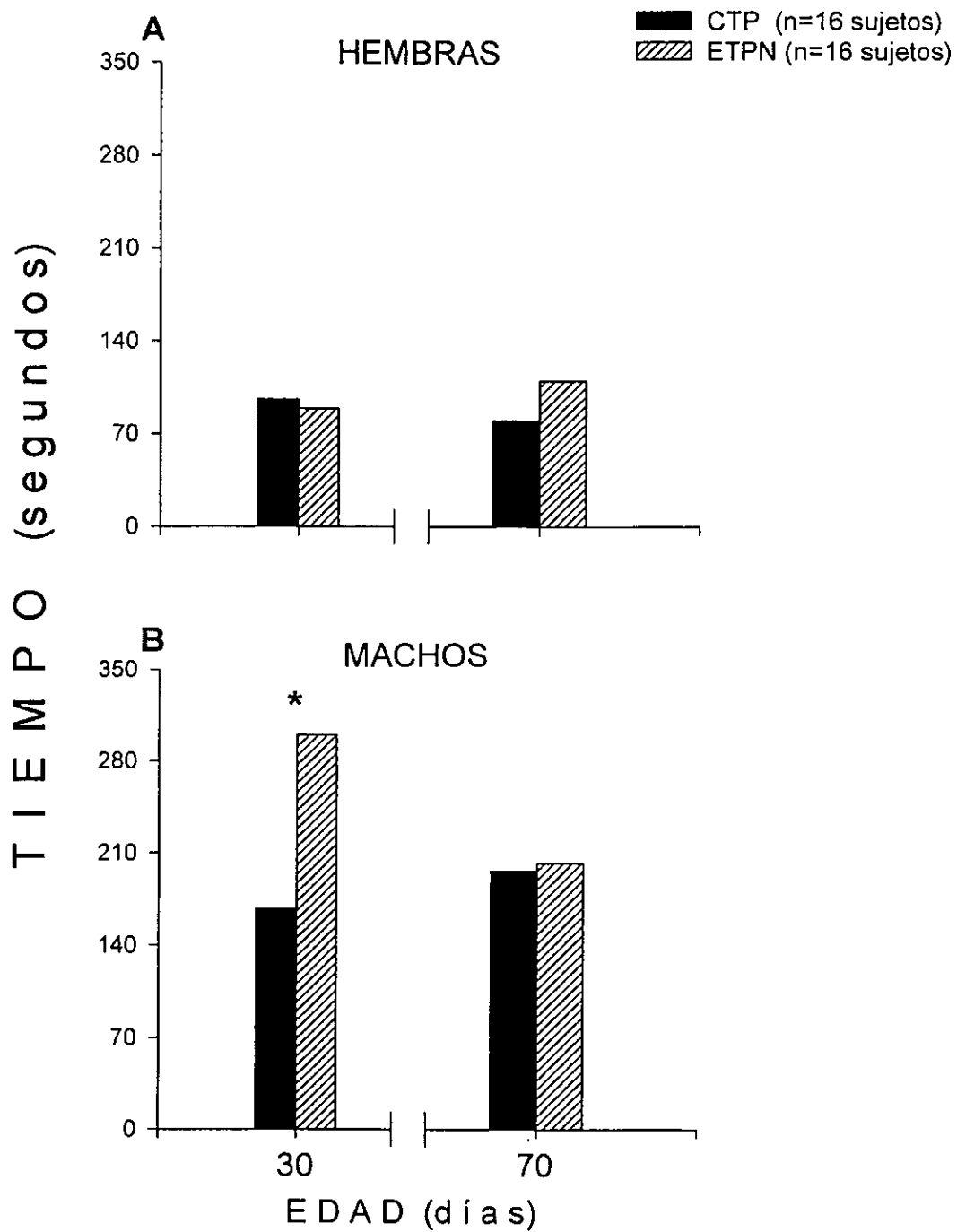


Fig. 20. Valores de la mediana del tiempo en segundos que le lleva a las ratas hembras (A) y machos (B) en encontrar un fragmento de galleta. Las diferencias significativas (\*), muestran un incremento a favor de los machos termocauterizados de un poro nasal (ETPN) con respecto a sus controles con termocauterización paranasal (CTP), en el día 30 de edad.

Estos dos tipos de comparaciones también se realizaron para las dimensiones de los BO de sujetos de 70 días postparto, en dicha edad los BO del poro nasal termocauterizado también fueron más pequeños con respecto a sus propios controles (mismos sujetos). En las hembras las diferencias fueron significativas en el **ancho**,  $F(1,14)=5.07$ ,  $p=0.041$  y en el **peso húmedo**,  $F(1,14)=8.23$ ,  $p=0.012$ , en el caso de los machos sólo en el **ancho**,  $F(1,14)=5.23$ ,  $p=0.038$  (Fig. 22, A, B y C). Al realizar la comparación de los BO de ratas del grupo ETPN con respecto a los de ratas del grupo CTP (diferentes sujetos), se observó que las diferencias fueron más consistentes, las cuales fueron en el mismo sentido, es decir los BO del lado termocauterizado fueron más pequeños. Las diferencias fueron significativas en las 3 mediciones, tanto en las hembras: **largo**,  $F(1,14)=14.37$ ,  $p=0.002$ ; **ancho**,  $F(1,14)=5.64$ ,  $p=0.032$  y **peso húmedo**,  $F(1,14)=27.68$ ,  $p=0.0001$ , como en los machos: **largo**,  $F(1,14)=51.70$ ,  $p=0.0001$ , **ancho**,  $F(1,14)=7.66$ ,  $p=0.015$  y **peso húmedo**,  $F(1,14)=22.77$ ,  $p=0.0001$  (Fig. 22, D, E y F).

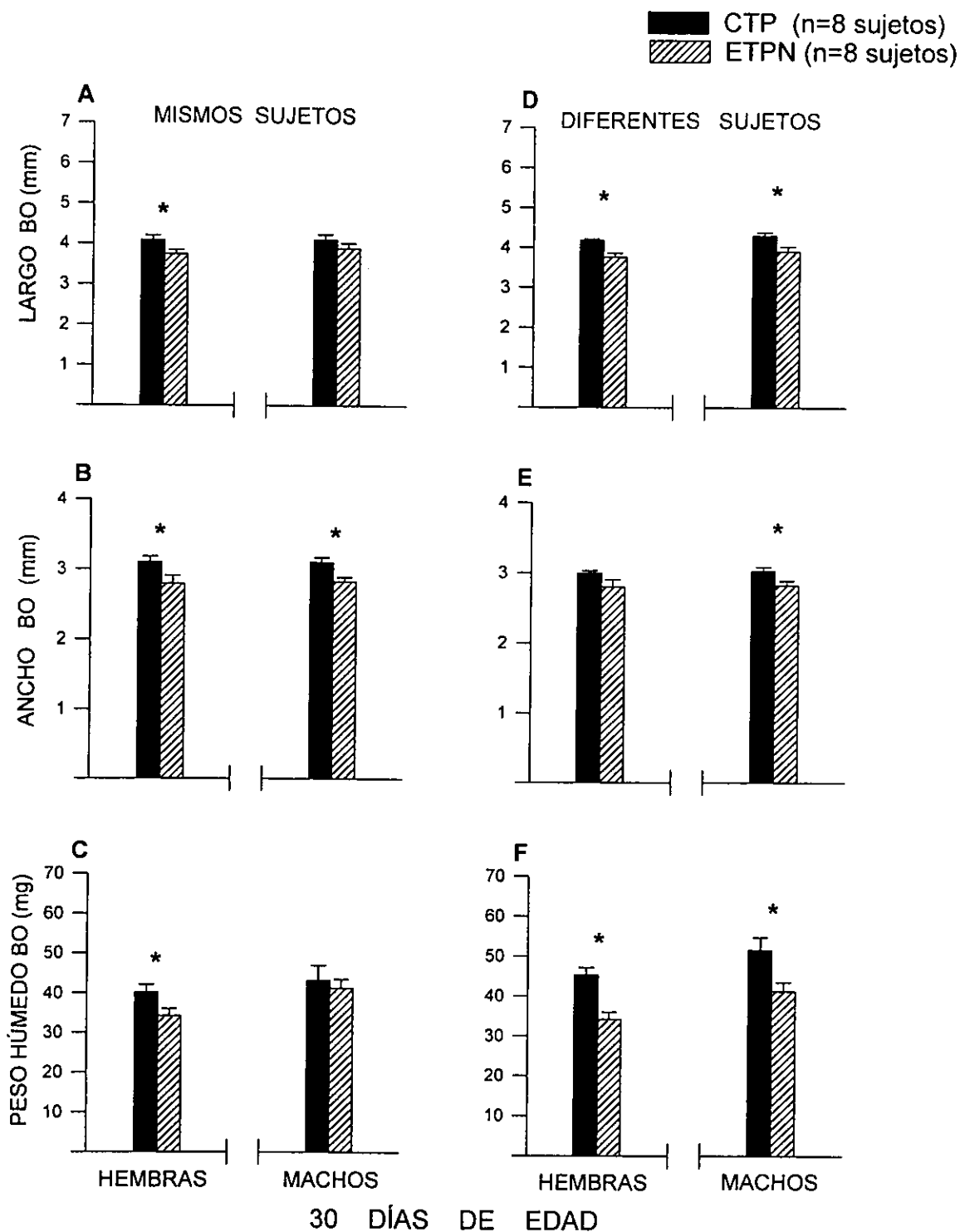


Fig. 21. Valores de la media  $\pm$  error estándar del largo, ancho y peso húmedo de los BO controles con termocauterización paranasal (CTP) y experimentales con cauterización de un poro nasal (ETPN) en sujetos de 30 días de edad, de ambos sexos. Los valores mostrados en A, B y C son de los BO de un mismo sujeto; D, E y F muestran los valores de los BO de diferentes sujetos. En general se obtuvo que los BO del lado termocauterizado fueron significativamente más pequeños (\*) con respecto a sus controles en la mayoría de las comparaciones.

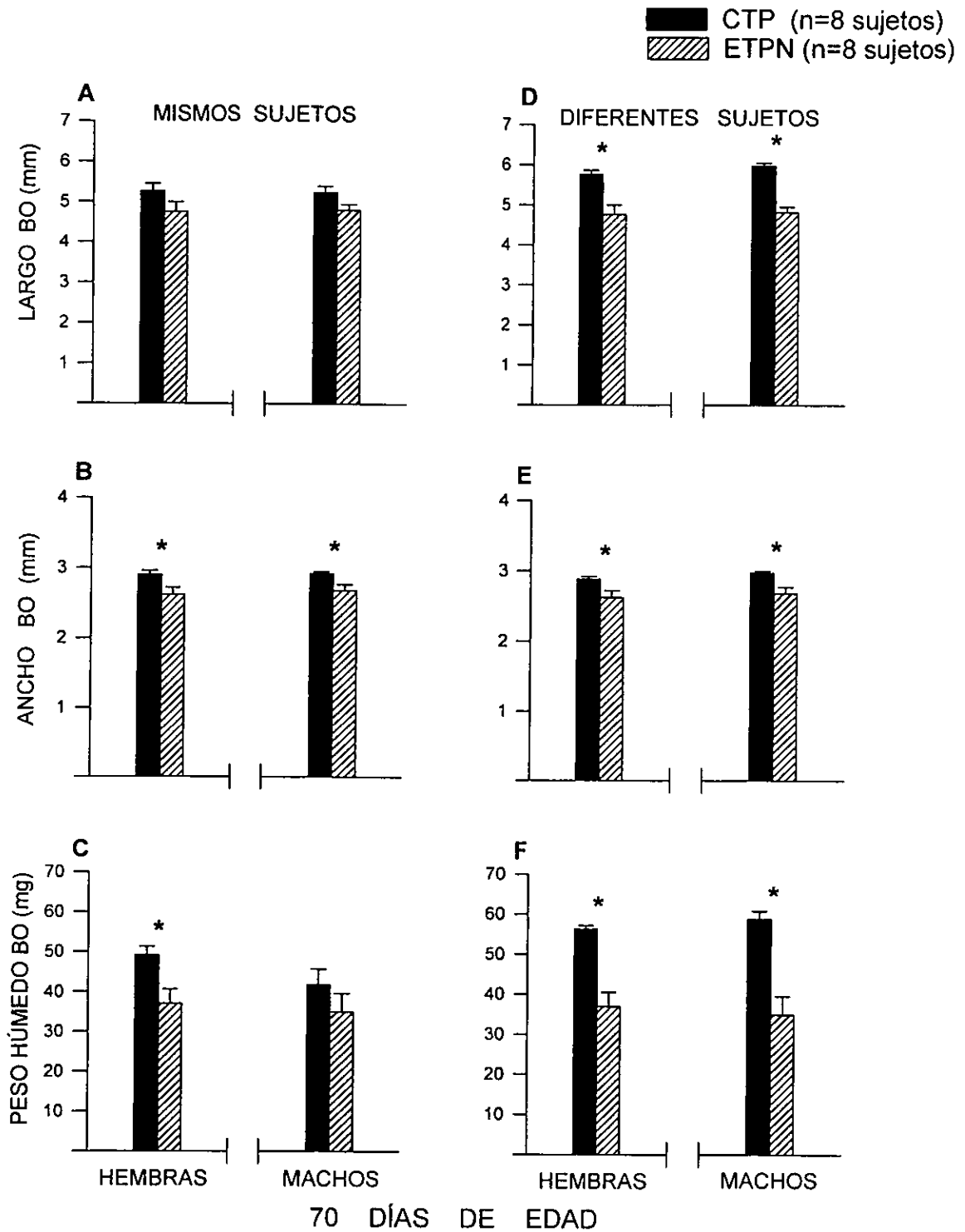


Fig. 22. Valores de la media  $\pm$  error estándar del largo, ancho y peso húmedo de los BO controles con termocauterización paranasal (CTP) y experimentales con cauterización de un poro nasal (ETPN) en sujetos de 70 días de edad, de ambos sexos. Los valores mostrados en A, B y C son de los BO de un mismo sujeto; D, E y F muestran los valores de los BO de diferentes sujetos. La disminución del tamaño de los BO de los sujetos del grupo ETPN fue significativa (\*) en algunas de las mediciones.

## EXPERIMENTO 2

### Estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo

La segunda parte del estudio que analizó los efectos del exceso de estimulación olfatoria empleando al acetato de amilo como estímulo durante el período predestete, mostró algunas alteraciones en los parámetros considerados para la evaluación del desarrollo físico, que no fueron tan evidentes comparadas con las del Experimento 1 y que se presentan a continuación.

#### *Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo durante el período neonatal sobre el desarrollo físico*

##### Hembras

A través de las 10 edades en las que se evaluó el peso corporal, se encontró un incremento gradual de éste en los sujetos de ambas condiciones experimentales y sexos (Fig. 23), observándose un efecto significativo en las hembras para el factor condición experimental,  $F(1,62)=8.86$ ,  $p=0.004$ ; edad,  $F(9,558)=7483.69$ ,  $p=0.01$  y para la interacción edad x condición experimental,  $F(9,558)=2.25$ ,  $p=0.017$ .

El peso corporal de los sujetos del grupo experimental con estimulación olfatoria libre (EEOL) se incrementó significativamente en comparación con las del grupo control con simulación de estimulación olfatoria libre (CsEOL). Sin embargo, el análisis post hoc indicó que en el caso de las hembras el incremento sólo fue significativo en los días 60 y 70, de edad (Fig. 23, A).

##### Machos

El peso corporal de los machos también fue significativamente diferente para la condición experimental,  $F(1,62)=8.86$ ,  $p=0.004$ ; la edad,  $F(9,558)=7483.69$ ,  $p=0.01$  y para la interacción condición experimental x edad,  $F(9,558)=2.25$ ,  $p=0.017$ . En los

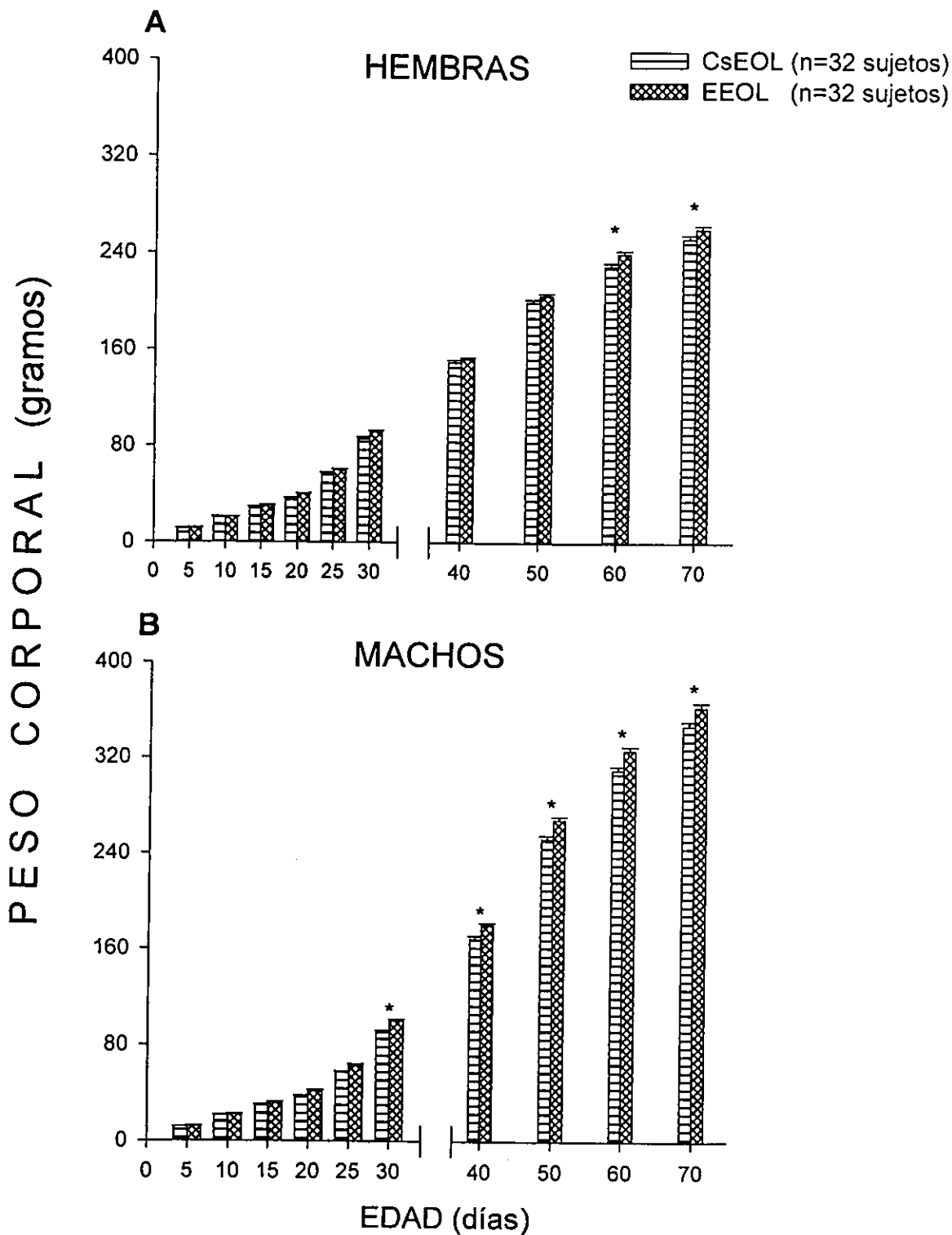


Fig. 23. Valores medios  $\pm$  error estándar del peso corporal durante el desarrollo de sujetos controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL) y estimulados durante el período neonatal con acetato de amilo (EEOL). Se obtuvo un incremento significativo del peso corporal (\*) de los sujetos EEOL con respecto a los del grupo CsEOL, en el caso de las hembras en los días 60 y 70 de edad y en los machos en los días 30, 40, 50, 60 y 70 postparto.

machos el peso corporal también se incrementó en los del grupo EEOL con respecto a los del grupo CsEOL; de acuerdo al análisis post hoc estas diferencias fueron significativas en los días **30, 40, 50, 60 y 70** de edad (Fig. 23, B). El peso corporal se modificó de manera diferente en lo que respecta al sexo, ya que las hembras expuestas al acetato de amilo se vieron menos afectadas que los machos, (ver Fig. 23).

Con relación a los efectos de la estimulación olfatoria sobre la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados, se obtuvieron efectos totalmente contrarios, comparados con los del grupo de los animales con termocauterización de un poro nasal del Experimento 1. Los hallazgos muestran que la maduración de estos dos canales sensoriales es más rápida en los sujetos del grupo EEOL comparados con los del grupo CsEOL. Con respecto a la apertura total de conductos auditivos externos en el caso de las hembras, este adelanto fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) en los días **15 y 17** (Fig. 24, A) y en el caso de los machos, en los días **15 y 16** de edad (Fig. 24, C). La apertura total de los párpados también mostró tendencias a presentarse primero en los sujetos del grupo EEOL con respecto a los del grupo CsEOL, este adelanto fue significativamente diferente ( $p < 0.05$ ), en el caso de las hembras en el día **19** (Fig. 24, B), y en los machos en el día **18** de edad (Fig. 24, D).

*Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo sobre el desarrollo de los componentes del juego*

## **BOXEO**

### **Hembras**

En el caso del boxeo como en el de la lucha y el encimamiento en las hembras, en general la frecuencia con la que se presentaron estos parámetros fue menor en los sujetos del grupo EEOL con respecto a los del grupo CsEOL.

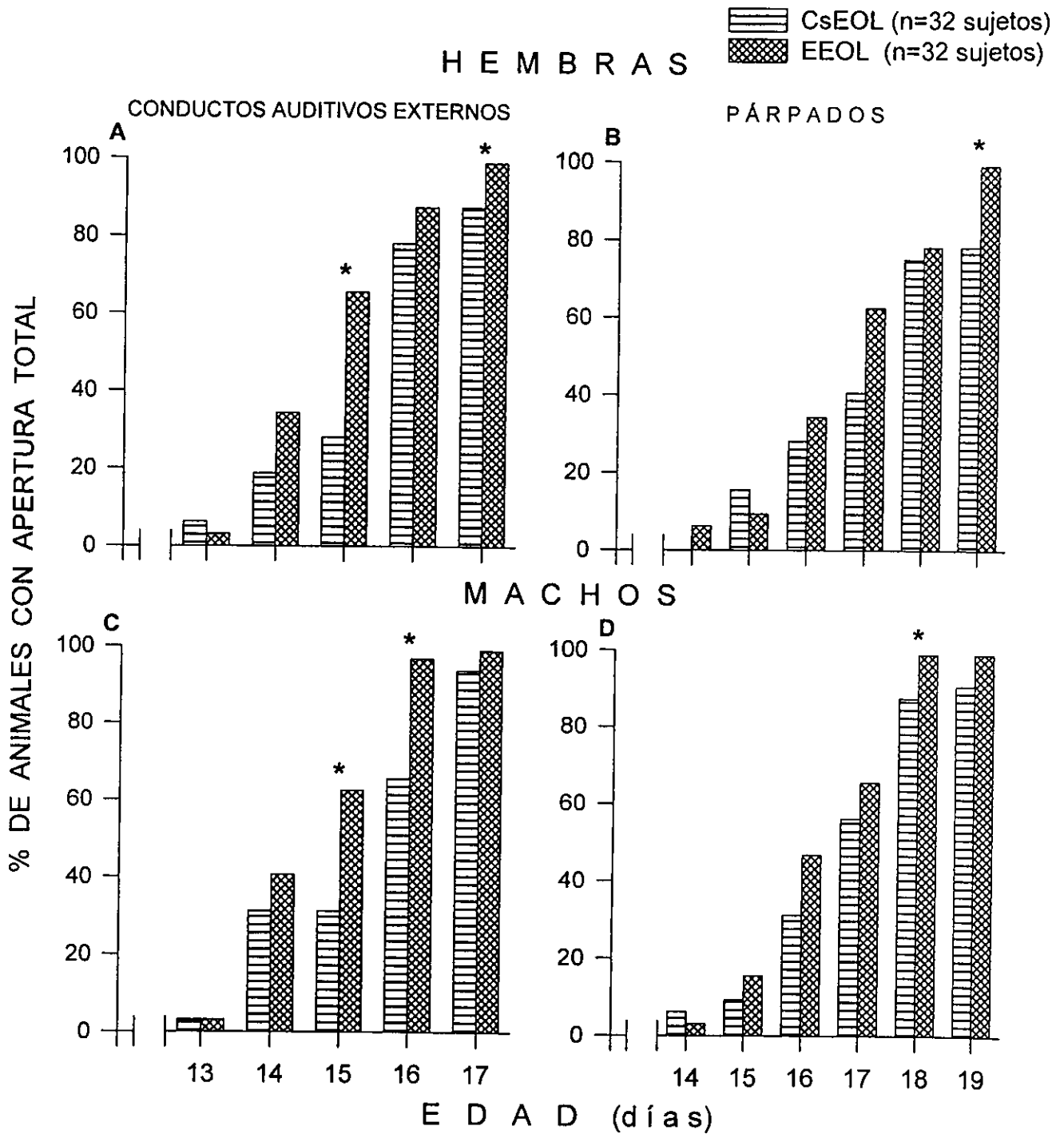


Fig. 24. Valores del porcentaje de animales con apertura total de conductos auditivos externos y de los párpados de los sujetos controles con simulación de estimulación (CsEOL) y estimulados con acetato de amilo (EEOL). Se obtuvo en general una tendencia a incrementarse estas aperturas en los animales EEOL. Sólo se obtuvieron incrementos estadísticamente significativos (\*) en las hembras en el día 15 y 17, y en los machos en los días 15 y 16 de edad en la apertura de los conductos auditivos externos y en la apertura de los párpados, en las hembras en el día 19 y en los machos en el día 18 de edad.



La frecuencia del boxeo en las hembras a lo largo de los días del estudio fue significativamente diferente para la condición experimental,  $F(1,14)=12.18$ ,  $p=0.003$  y para la edad,  $F(6,84)=9.06$ ,  $p=0.0001$ , no encontrándose diferencias en la interacción de estos factores. La frecuencia de este parámetro tendió a disminuir en los sujetos del grupo EEOL con respecto a los del grupo CsEOL, sin embargo, el análisis post hoc no indicó diferencias significativas para ninguno de los días de registro (Fig. 25, A).

#### Machos

El boxeo en los machos sólo fue significativamente diferente para el factor edad,  $F(6,84)=8.50$ ,  $p=0.0001$ , no siendo de la misma manera para la condición experimental (Fig. 25, B). Tampoco se encontraron diferencias significativas en las interacciones entre los factores edad x condición experimental.

## LUCHA

#### Hembras

Con respecto a la lucha se encontraron diferencias significativas en cuanto al tipo de juego,  $F(1,14)=183.54$ ,  $p=0.0001$  y a la edad,  $F(6,84)=85.75$ ,  $p=0.01$ . Asimismo, hubo diferencias en la interacción de los siguientes factores: tipo de juego x condición experimental,  $F(1,14)=6.79$ ,  $p=0.02$ , edad x condición experimental,  $F(6,84)=4.01$ ,  $p=0.001$ , tipo de juego x edad,  $F(6,84)=51.06$ ,  $p=0.0001$  y entre el tipo de juego x edad x condición experimental,  $F(6,84)=4.31$ ,  $p=0.0007$ .

La frecuencia de la lucha en las hembras del grupo EEOL con respecto a las del grupo CsEOL fue significativamente menor de acuerdo al análisis post hoc, solamente en los días **25** y **40** de edad para el juego de pareja (Fig. 26, A).

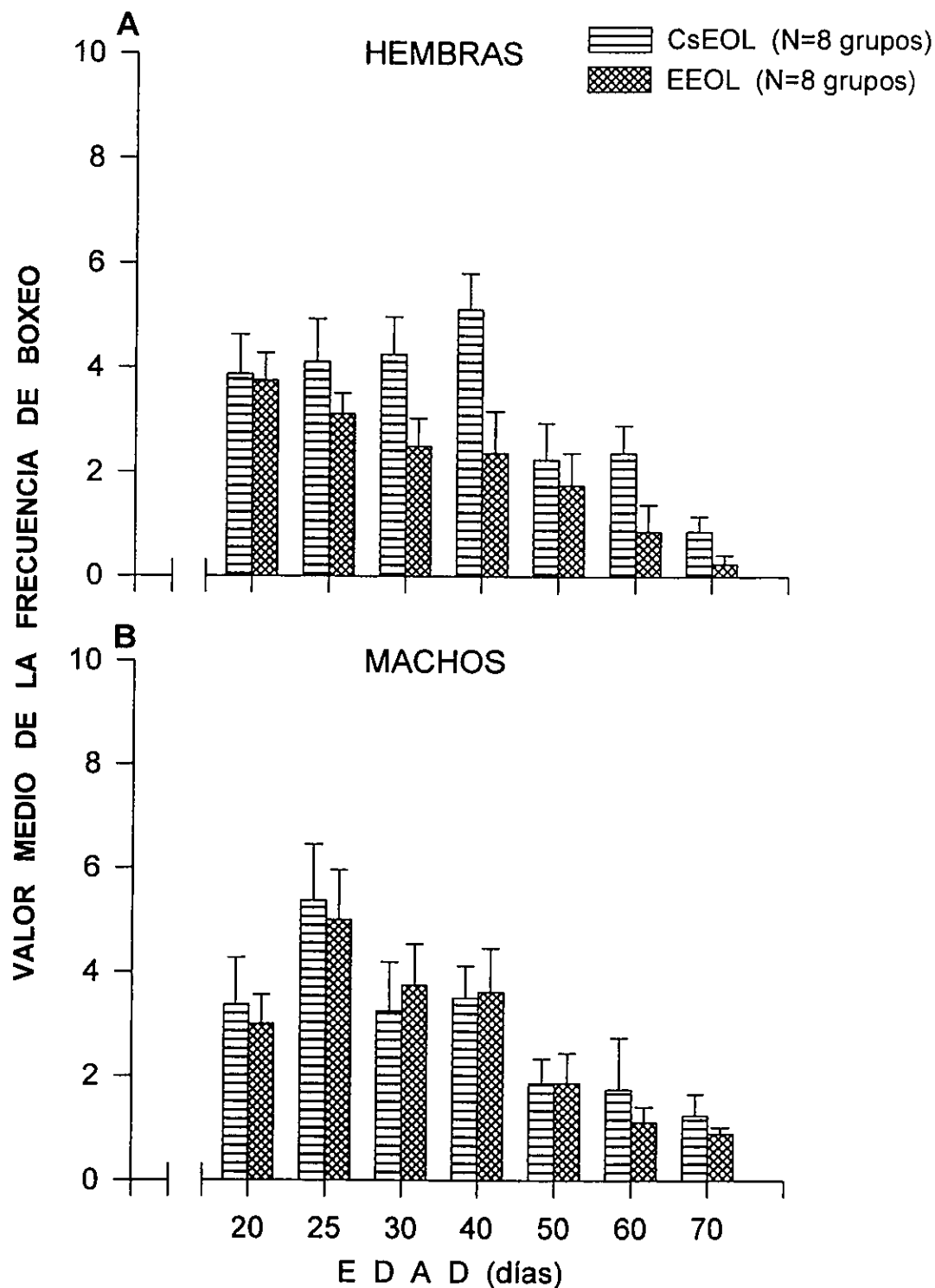


Fig. 25. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia del boxeo en ratas hembras y machos controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL) y experimentales con estimulación olfatoria (EEOL). En general el boxeo tendió a decrementarse en los sujetos experimentales a lo largo de los días del estudio.

## Machos

De acuerdo a la comparación estadística a lo largo del estudio, la frecuencia de la lucha en los machos fue significativamente diferente para el tipo de juego,  $F(1,14)=219.43$ ,  $p=0.0001$  y para la edad,  $F(6,84)=76.65$ ,  $p=0.01$ . También se obtuvo una interacción significativa entre estos dos factores,  $F(6,84)=56.04$ ,  $p=0.0001$ . En este componente conductual, tampoco hubo diferencias significativas para la condición experimental. Sin embargo, los machos del grupo EEOL tendieron a presentar con mayor frecuencia este componente (Fig. 26, B).

## ENCIMAMIENTO

### Hembras

En cuanto al encimamiento se obtuvieron diferencias significativas para el tipo de juego,  $F(1,14)=159.64$ ,  $p=0.0001$ ; edad,  $F(6,84)=117.81$ ,  $p=0.01$  y para la interacción entre los dos factores,  $F(6,84)=47.05$ ,  $p=0.0001$ . Con respecto a la condición experimental, se obtuvo una probabilidad casi significativa, por lo que se realizó el análisis post hoc y efectivamente se encontró que en el juego de pareja, la diferencia de la frecuencia del encimamiento en las ratas del grupo EEOL fue significativamente menor con respecto a las del grupo CsEOL sólo en el día **25** de edad (Fig. 27, A).

### Machos

En los machos, el análisis estadístico a lo largo del estudio mostró diferencias significativas para el tipo de juego,  $F(1,14)=75.78$ ,  $p=0.0001$ ; edad,  $F(6,84)=87.36$ ,  $p=0.01$  y para la interacción entre los dos factores,  $F(6,84)=40.90$ ,  $p=0.0001$ . En el caso de los machos al igual que en la lucha, el encimamiento también tendió a presentarse con mayor frecuencia en los sujetos del grupo EEOL con respecto a los del grupo CsEOL. Esta tendencia siguió un curso temporal contrario a lo que ocurrió en las hembras (Fig. 27, B).

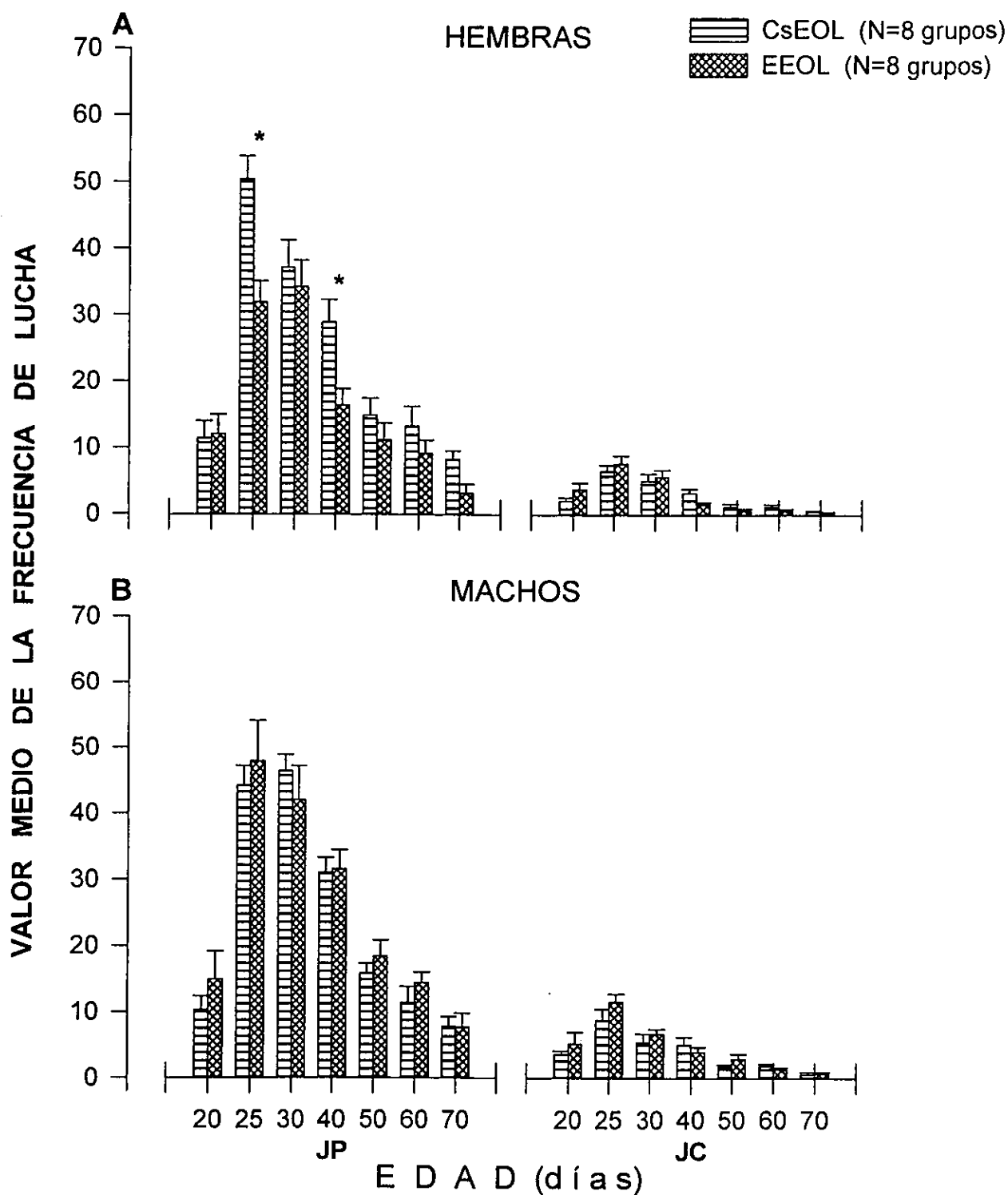


Fig. 26. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia de la lucha durante el juego de pareja (JP) y de conjunto (JC) en ratas hembras (A) y machos (B). Nótese, que el decremento estadísticamente significativo (\*), sólo fue para el caso de las hembras experimentales con estimulación olfatoria (EEOL) con respecto a las del grupo control con simulación de estimulación (CsEOL) en los días 25 y 40 de edad en el JP.

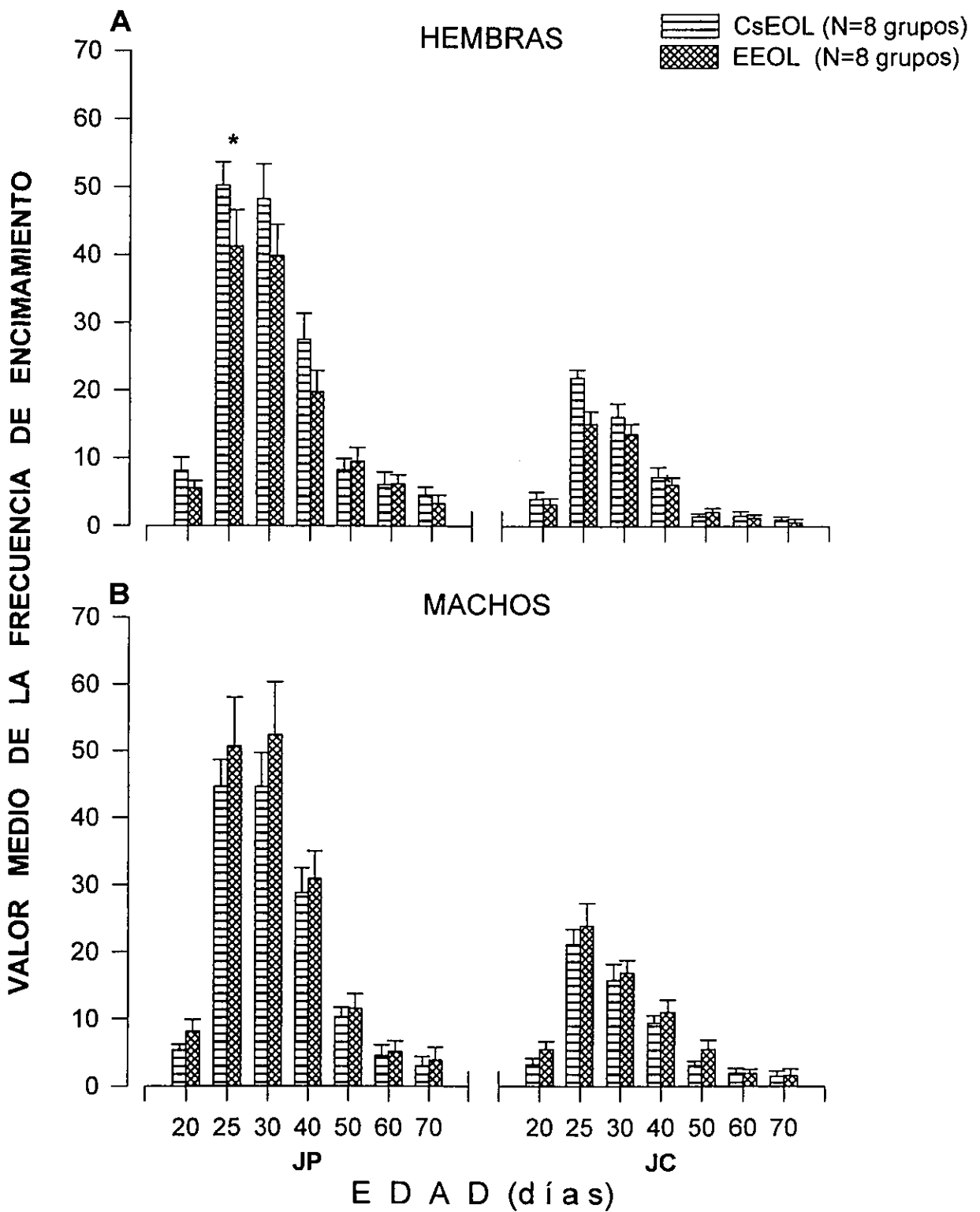


Fig. 27. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia del encimamiento durante el juego de pareja (JP) y de conjunto (JC) en ratas de ambos sexos (A y B). En la mayoría de los casos las tendencias a disminuir la frecuencia de este parámetro fue a favor de los sujetos estimulados en las hembras y a incrementarse en los machos. Sin embargo, se obtuvo que el decremento sólo fue estadísticamente significativo (\*), para el caso de las hembras en el día 25 de edad en el JP.

*Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo sobre el desarrollo de los componentes del juego total durante la etapa prepuberal y postpuberal*

Al comparar la frecuencia del juego total durante la etapa prepuberal y la postpuberal, el análisis estadístico indicó que con respecto a la condición experimental, sin considerar el sexo y el tipo de juego; y al sexo, sin considerar la condición experimental y el tipo de juego no hubo diferencias significativas, sólo se observaron tendencias a incrementarse la frecuencia del juego, en los sujetos del grupo CsEOL con respecto a los del grupo EEOL (Fig. 28, A) y en los machos con respecto a las hembras (Fig. 28, B). Sin embargo, sí hubo diferencias significativas con respecto al tipo de juego, sin considerar la condición experimental y el sexo, el juego en pareja fue significativamente mayor que el de conjunto tanto en la etapa prepuberal,  $F(1,31)=325.56$ ,  $p=0.0001$  (Fig. 28, C), como en la postpuberal,  $F(1,31)=177.88$ ,  $p=0.0001$  (Fig. 28, C). También se hizo la comparación estadística de la etapa peripuberal (prepuberal vs postpuberal), no considerando la condición experimental, el sexo y el tipo de juego, obteniéndose que la frecuencia del juego total fue significativamente mayor,  $F(1,31)=380.56$ ,  $p=0.0001$  en la etapa prepuberal (Fig. 28, D).

*Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo sobre los contactos físicos recibidos durante los períodos interjuego*

Los resultados del análisis estadístico de la frecuencia de contactos registrados durante los intervalos interjuego en la nuca, flancos, pelvis y dorso en parejas y en conjunto sólo para estos últimos, se muestran en la Tabla 2. En particular, las diferencias significativas obtenidas del análisis post hoc de los contactos de los sujetos del grupo CsEOL y EEOL, se obtuvieron solamente para los contactos en la pelvis y en el dorso en los siguientes días de registro: para los contactos en la **pelvis** en el caso de las hembras no hubo diferencias significativas (Fig. 29, C), sin embargo, para el caso de los machos los contactos fueron significativamente menores en los sujetos del grupo EEOL con respecto a los del grupo CsEOL en el día **25** de edad (Fig. 29, D).

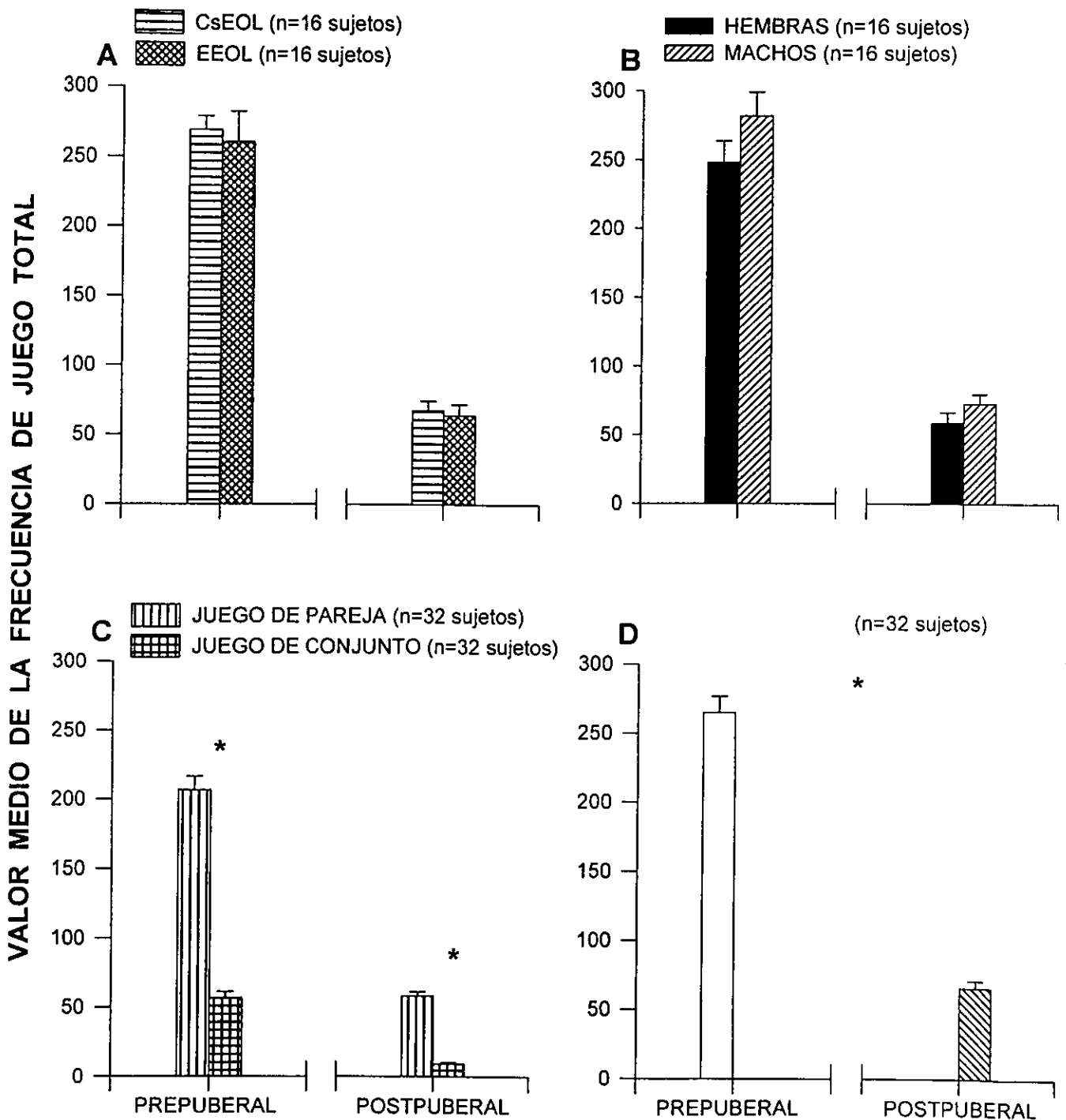


Fig. 28. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia del juego total (boxeo, lucha y encimamiento) durante las etapas pre y postpuberal, con respecto a la condición experimental (A), al sexo (B), al tipo de juego (C) y al período peripuberal (D). Se observó un incremento significativo (\*) en el juego de pareja en ambos períodos y en general que el juego es más frecuente en el período prepuberal con respecto al postpuberal.

Tabla 2. Resultados del análisis estadístico (MANOVA) de los contactos ocurridos en 4 regiones del cuerpo durante los períodos interjuego, en sujetos controles con simulación de estimulación olfatoria y estimulados con acetato de amilo durante el desarrollo.

		HEMBRAS			MACHOS		
		gl	F	p	gl	F	p
<b>NUCA</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	5.32	0.036*	(1,14)	8.68	0.010*
	EDAD	(6,84)	3.32	0.005*	(6,84)	6.86	0.0001*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	1.65	0.143	(6,84)	1.98	0.077
<b>FLANCOS</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	0.83	0.375	(1,14)	0.13	0.717
	EDAD	(6,84)	7.30	0.0001*	(6,84)	4.13	0.001*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	0.68	0.661	(6,84)	1.10	0.369
<b>PELVIS</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	0.04	0.844	(1,14)	8.84	0.010*
	EDAD	(6,84)	2.36	0.037*	(6,84)	1.31	0.260
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	1.93	0.085	(6,84)	2.43	0.032*
<b>DORSO</b> (PAREJA)	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	5.81	0.030*	(1,14)	0.46	0.506
	EDAD	(6,84)	11.96	0.0001*	(6,84)	14.01	0.0001*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	3.61	0.003*	(6,84)	3.28	0.006*
<b>(CONJUNTO)</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	15.95	0.001*	(1,14)	0.31	0.584
	EDAD	(6,84)	16.12	0.0001*	(6,84)	6.55	0.0001*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	1.39	0.228	(6,84)	2.31	0.040*



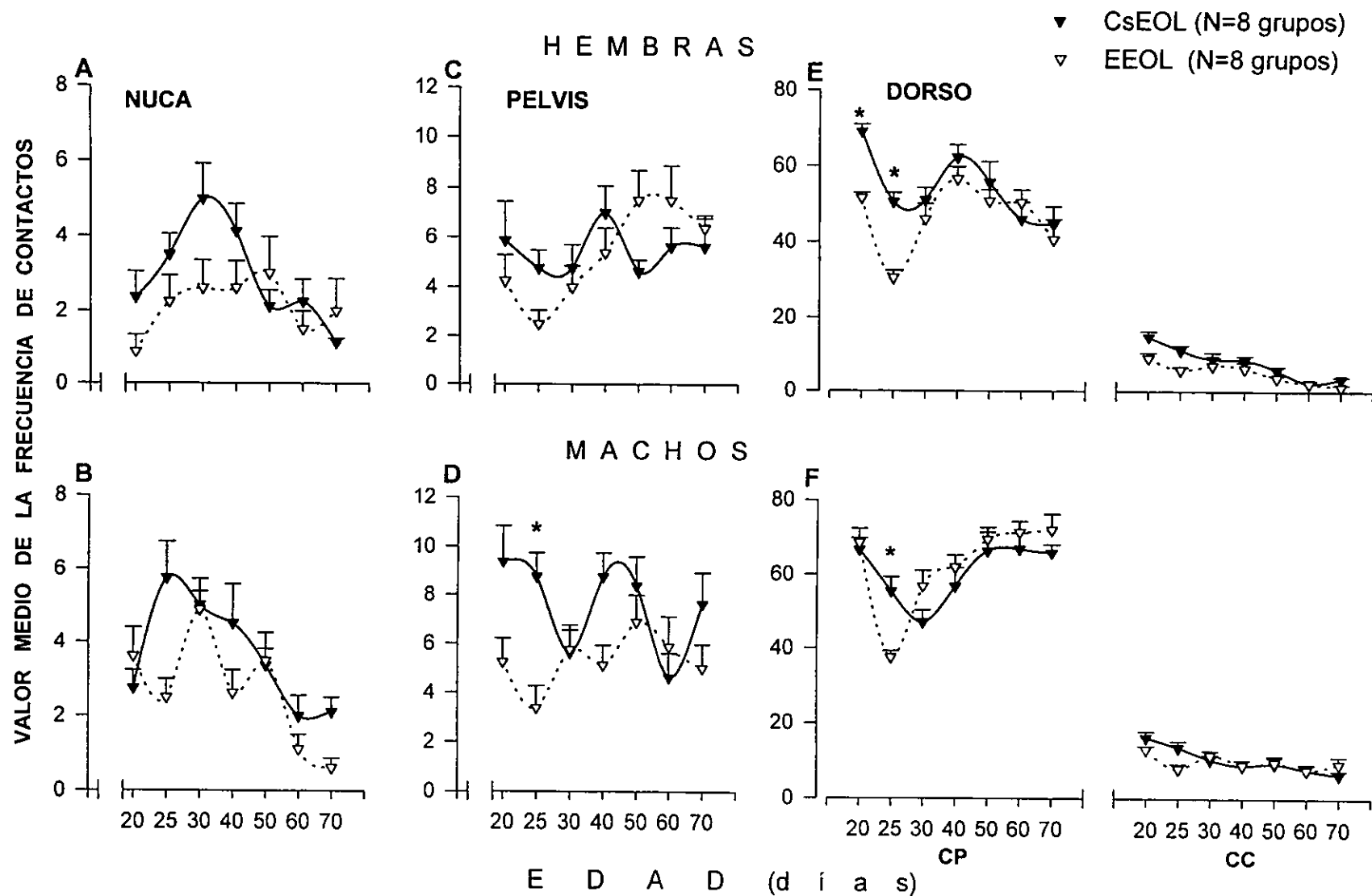


Fig. 29. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia de contactos ocurridos durante los períodos interjuego en hembras y machos controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL) vs estimulados olfatoriamente (EEOL). Nótese que los contactos en la pelvis y en el dorso fueron significativamente menores (\*) en los animales del grupo EEOL con respecto a los del grupo CsEOL.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Los contactos en el **dorso** también fueron menos frecuentes en los sujetos del grupo EEOL con respecto a las del grupo CsEOL, estas diferencias fueron significativas en el caso de las hembras en los días **20** y **25** y en los machos en el día **25** de edad, sólo para los contactos en pareja (Fig. 29, E y F).

#### *Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo sobre la capacidad de olfacción*

En las pruebas de olfacción realizadas para evaluar la capacidad olfatoria, se obtuvo que las hembras del grupo EEOL tardaron más tiempo en encontrar el fragmento de galleta con respecto a las del grupo CsEOL, en el día **30** ( $p=0.028$ ) y **70** de edad ( $p=0.010$ ) (Fig. 30, A). Sin embargo, en el caso de los machos no hubo diferencias significativas en ninguna de estas edades (Fig. 30, B). Este hallazgo muestra que la estimulación olfatoria predestete con acetato de amilo, parece alterar la capacidad de olfacción sólo en las hembras del grupo EEOL.

#### *Efectos de la estimulación olfatoria bilateral libre con acetato de amilo sobre el largo, ancho y el peso húmedo de los BO*

Con respecto a las características físicas de los BO, éstos fueron significativamente mayores en el largo y en el peso húmedo de los BO provenientes de sujetos estimulados con acetato de amilo, con respecto a los del grupo CsEOL. Estas diferencias se obtuvieron tanto en las hembras en el **largo**,  $F(1,30)=14.03$ ,  $p=0.001$  y en el **peso húmedo**,  $F(1,30)=10.43$ ,  $p=0.003$ , como en los machos, también en el **largo**,  $F(1,30)=9.02$ ,  $p=0.005$  y en el **peso húmedo**,  $F(1,30)=6.73$ ,  $p=0.014$  (Fig. 31 A y C) en los sujetos de 30 días de edad. En cuanto a las dimensiones de los BO en sujetos de 70 días éstas fueron significativamente mayores en las hembras sólo en el **largo**,  $F(1,30)=11.38$ ,  $p=0.002$  y en los machos en el **peso húmedo**,  $F(1,30)=4.40$ ,  $p=0.044$  (Fig. 31, D y F).

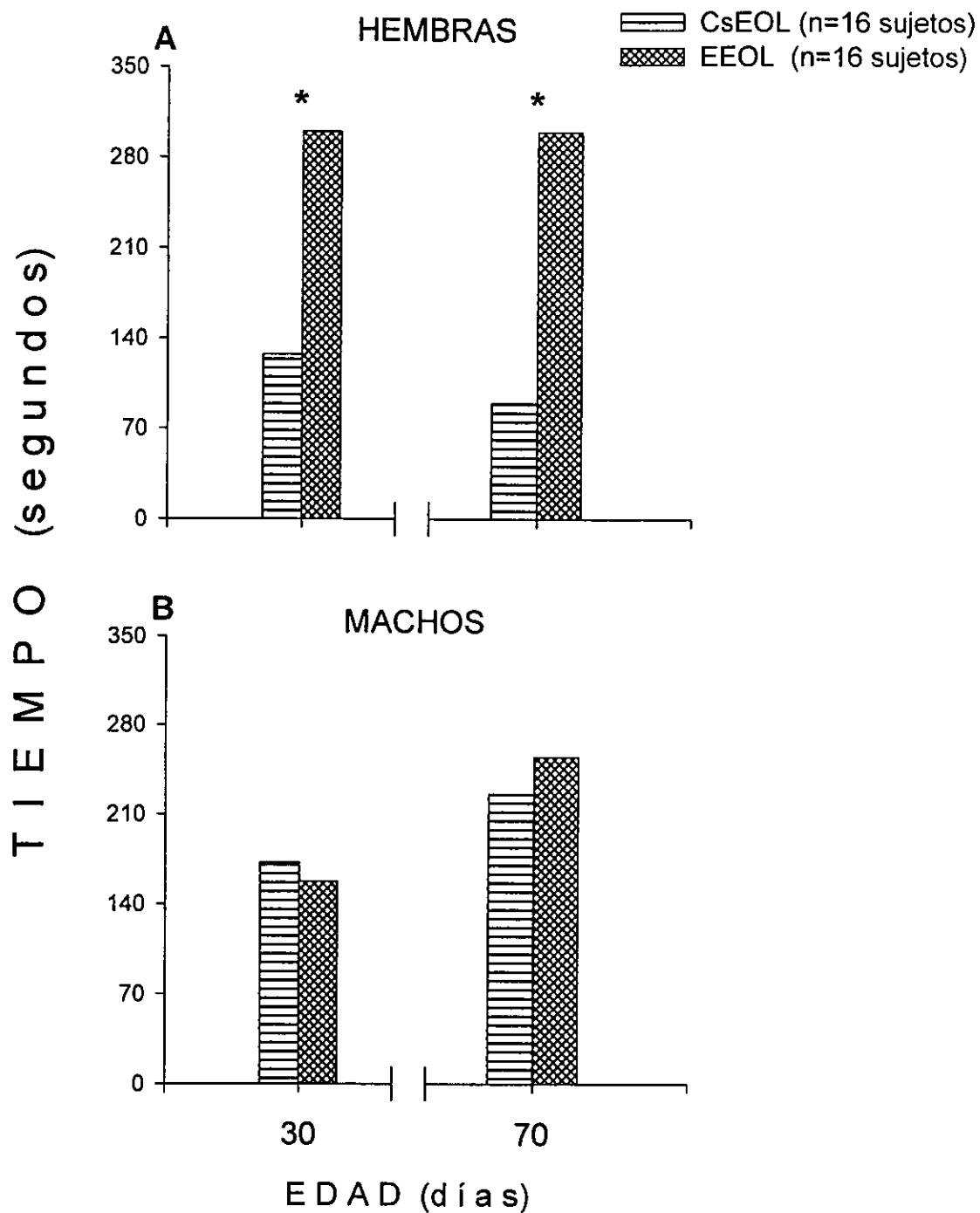


Fig. 30. Valores de la mediana del tiempo en segundos que les lleva a las ratas hembras (A) y machos (B) en encontrar un fragmento de galleta. Se observó un incremento significativo (\*) en el tiempo requerido por las hembras estimuladas (EEOL), con respecto a sus controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL), en los días 30 y 70 de edad. En el caso de los machos no se observaron diferencias significativas en la capacidad de olfacción.

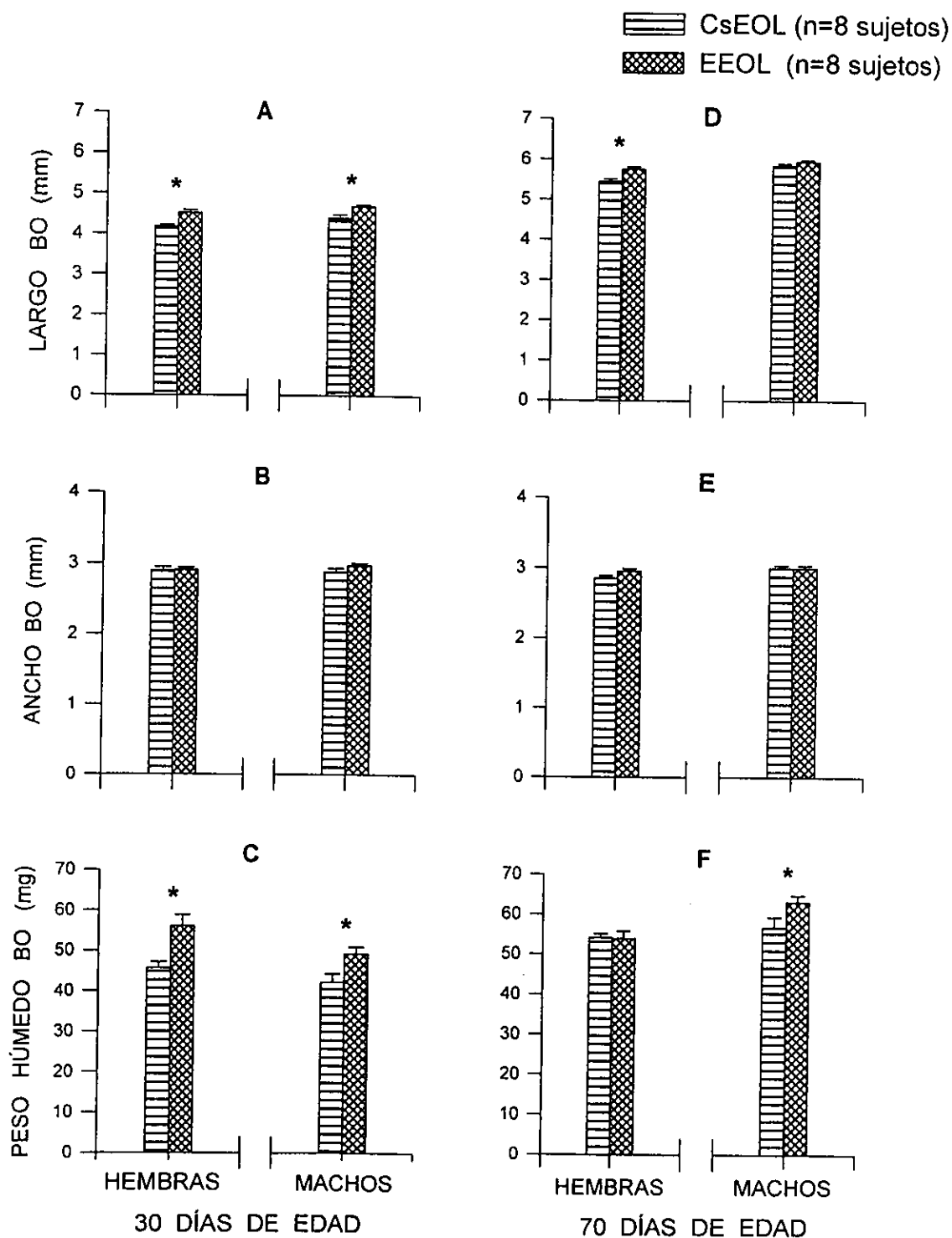


Fig. 31. Valores de la media  $\pm$  error estándar del largo, ancho y del peso húmedo de los BO de ratas hembras y machos controles con simulación de estimulación (CsEOL) y estimuladas con acetato de amilo (EEOL) de 30 y de 70 días de edad. Hubo un aumento significativo (\*) en el largo (A) y peso húmedo (C) de los BO de las ratas hembras y machos de 30 días de edad, del grupo EEOL con respecto a los del grupo CsEOL, y en el largo de los BO de las hembras (D) y en el peso húmedo (F) de los machos de 70 días de edad.

En el presente trabajo se realizaron otros dos tipos de comparaciones estadísticas, con la finalidad de corroborar que los datos presentados en el Experimento 1 y 2, fueran el resultado del efecto de las manipulaciones experimentales. Es decir que el reducir el ingreso de estímulos olfatorios a través de la cauterización de un poro nasal (Experimento 1), o el de dar un exceso de estimulación olfatoria predestete con acetato de amilo (Experimento 2), hubiésen sido las causas de las alteraciones en el desarrollo de la conducta de juego.

La justificación de este tipo de análisis estadístico se fundamenta en que posiblemente el exceso de estimulación sensorial, puede alterar el desarrollo de algunos patrones conductuales. En efecto, un exceso de estimulación pudo generarse como consecuencia de una mayor atención por parte de la madre hacia las crías que tenían la termocauterización o por tener un olor extraño impregnado en el pelo (acetato de amilo). En el caso de estas últimas cabe mencionar que además recibieron estimulación manual, por el simple hecho de manipularlas diariamente del día 3 al 19 de edad para realizar la estimulación olfatoria.

Los resultados que se presentaran en las siguientes 2 secciones, darán información acerca del efecto de la estimulación sensorial. Para tal objetivo en la primera sección se compararon estadísticamente los datos obtenidos del grupo control (CONTROL) sin ningún tipo de manipulación, *versus* los del grupo control con termocauterización paranasal (CTP). En la sección 2 se mostrarán los resultados de la comparación de los datos obtenidos del grupo control (CONTROL), *versus* los del grupo control con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL).

## SECCIÓN 1

### Termocauterización paranasal

#### *Efectos de la termocauterización paranasal sobre el desarrollo físico*

##### Hembras

El peso corporal registrado en 10 edades a lo largo del desarrollo fue significativamente diferente con respecto a la edad,  $F(9,558)=5538.89$ ,  $p=0.01$ . Así como para la interacción entre los factores condición experimental x edad,  $F(9,558)=1.92$ ,  $p=0.046$ . El peso corporal de las hembras no se modificó con respecto a la condición experimental.

##### Machos

El peso corporal de los machos fue significativamente diferente para la condición experimental,  $F(1,62)=7.90$ ,  $p=0.006$ , para la edad,  $F(9,558)=6354.37$ ,  $p=0.01$  y para la interacción entre los factores condición experimental x edad,  $F(9,558)=7.12$ ,  $p=0.0001$ . El peso corporal de los machos fue mayor en los sujetos del grupo control con termocauterización paranasal (CTP) con respecto a los del grupo control sin ningún tipo de manipulación experimental (CONTROL). El análisis post hoc indicó que esta diferencia fue significativa en el día **60** de edad (Fig. 32, B).

La apertura total de conductos auditivos externos y de párpados, se presentó en un mayor porcentaje de sujetos del grupo CTP con respecto a los del grupo CONTROL. En el caso de las hembras este porcentaje fue significativamente mayor ( $p<0.05$ ) en el día **16** de edad tanto en la apertura total de oídos como de los párpados (Fig. 33, A y B), y en los machos en los días **16** y **17** para la apertura de oídos y en los mismos días para la apertura total de párpados (Fig. 33, C y D).

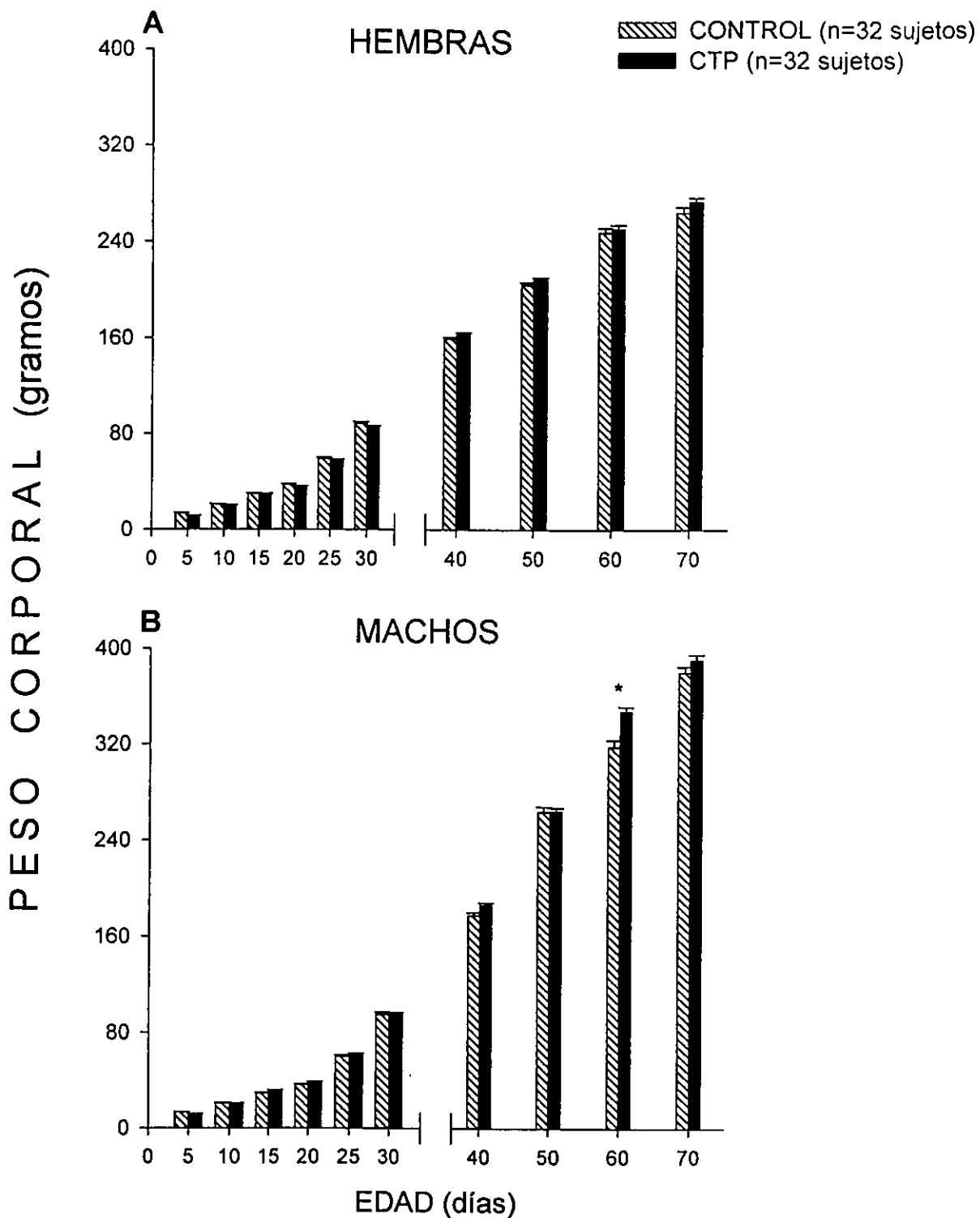


Fig. 32. Valores de la media  $\pm$  error estándar del peso corporal en ratas hembras (A) y machos (B) controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL) y controles con termocauterización paranasal (CTP). Nótese, el incremento significativo (\*) en el peso de los machos CTP *versus* los CONTROL sólo en el día 60 de edad.

H E M B R A S

CONTROL (n=32 sujetos)
  CTP (n=32 sujetos)

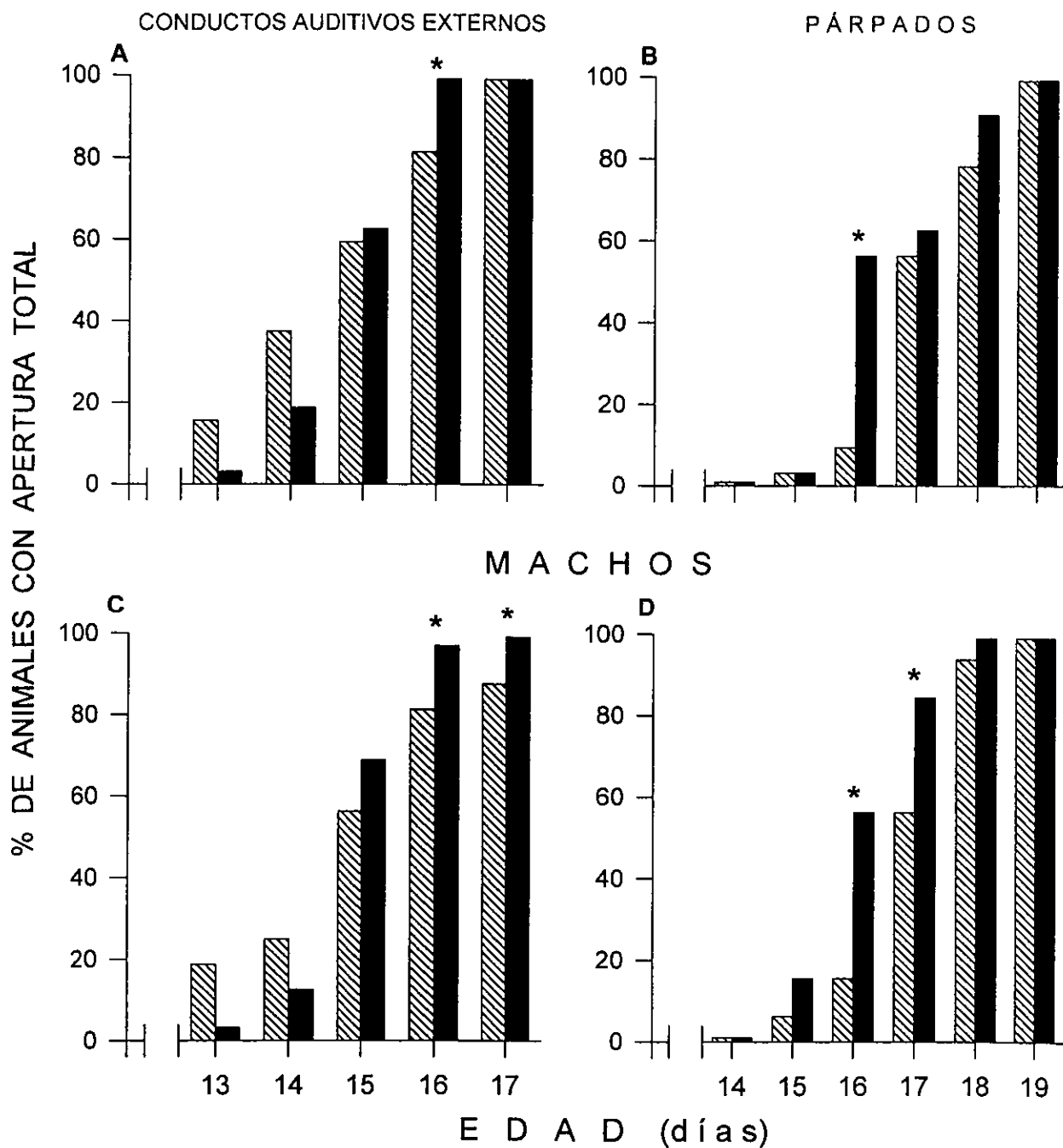


Fig. 33. Porcentaje de la apertura total de los conductos auditivos externos (izquierda) y de los párpados (derecha). El porcentaje de los animales con apertura total de oídos y párpados fue significativamente mayor (\*) en los del grupo control con termocauterización paranasal (CTP) con respecto a los controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL), tanto en hembras en el día 16 (A y B) como en machos en los días 16 y 17 de edad (C y D).



## *Efectos de la termocauterización paranasal sobre el desarrollo de los componentes del juego*

### **BOXEO**

#### Hembras

El valor medio de la frecuencia del boxeo en general fue menor en los sujetos del grupo CTP con respecto a los del grupo CONTROL. En el caso de las hembras las diferencias fueron significativas con respecto a la condición experimental,  $F(1,14)=10.58$ ,  $p=0.005$  y a la edad,  $F(6,84)=5.92$ ,  $p=0.0001$ . No hubo diferencias para la interacción entre estos dos factores. El análisis post hoc tampoco indicó diferencias significativas en ninguno de los días del registro (Fig. 34, A).

#### Machos

La frecuencia del boxeo en los machos también fue significativamente diferente para la condición experimental,  $F(1,14)=35.65$ ,  $p=0.0001$  y para la edad,  $F(6,84)=7.92$ ,  $p=0.0001$ ; pero no para la interacción entre estos dos factores. El boxeo también fue menos frecuente en los sujetos del grupo CTP con respecto a los del grupo CONTROL. De acuerdo al análisis post hoc las diferencias fueron significativas sólo en el día 40 de edad (Fig. 34, B).

### **LUCHA**

#### Hembras

La frecuencia de la lucha fue significativamente diferente para el factor edad,  $F(6,84)=109.55$ ,  $p=0.01$  y para las interacciones entre el tipo de juego x edad

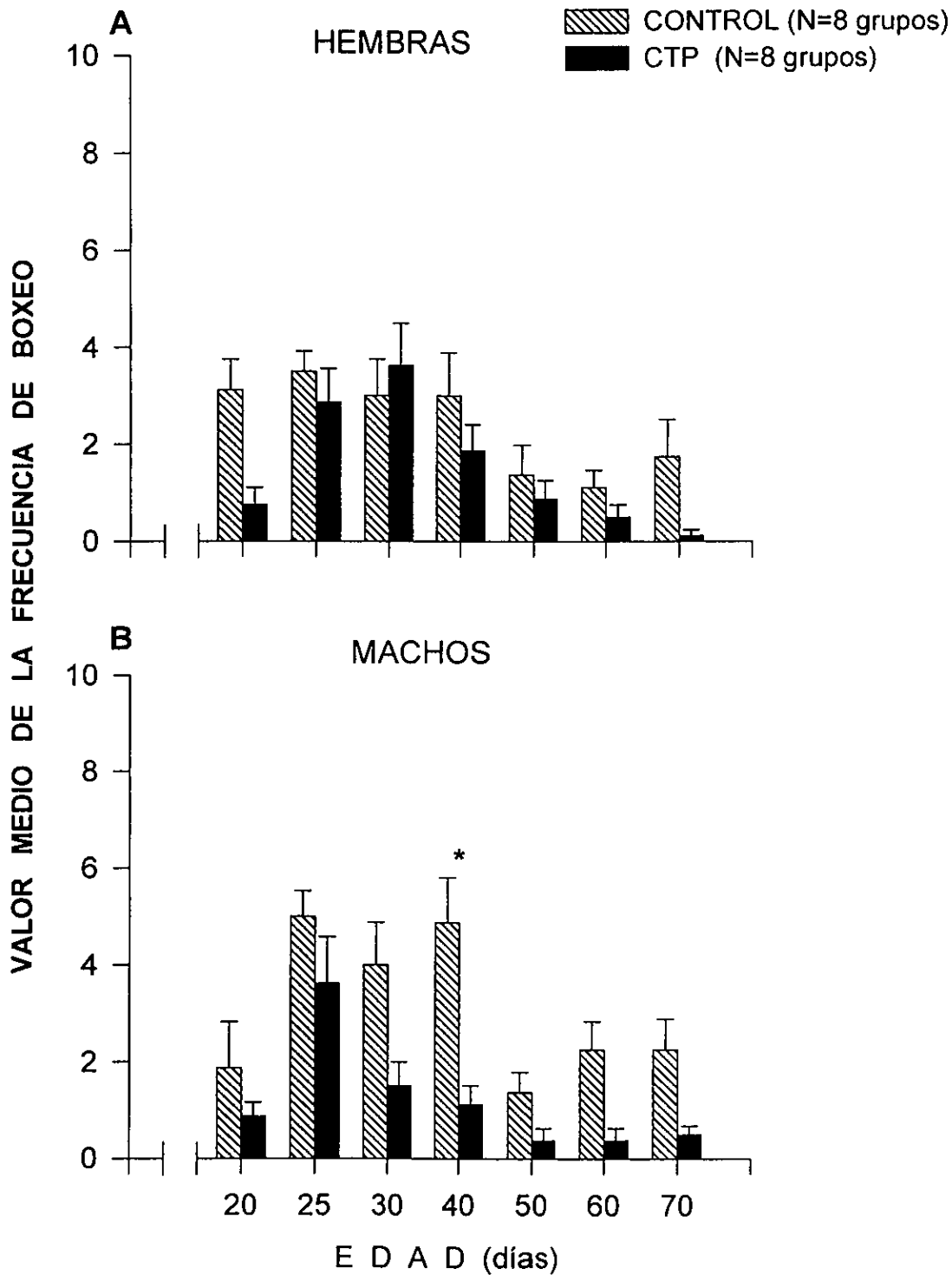


Fig. 34. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia del boxeo en hembras (A) y machos (B). Este parámetro disminuyó significativamente (\*) en los sujetos controles con termocauterización paranasal (CTP) vs los controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL) solamente en el día 40 de edad en los machos.

$F(6,84)=95.13$ ,  $p=0.01$ , y tipo de juego x edad x condición experimental,  $F(6,84)=2.58$ ,  $p=0.02$ . Al realizar el análisis post hoc, se obtuvo solamente una diferencia significativa en el día **25** de edad en el juego de pareja, mostrándose una tendencia a reducirse la frecuencia de la lucha en las ratas del grupo CTP con respecto a las del grupo CONTROL en la mayoría de los días del estudio (Fig. 35, A).

## Machos

En el caso de los machos la frecuencia de la lucha fue significativamente diferente para la edad,  $F(6,84)=96.75$ ,  $p=0.01$  y para la interacción tipo de juego x edad,  $F(6,84)=53.96$ ,  $p=0.0001$ . No se obtuvieron diferencias significativas para la condición experimental, aunque cabe mencionar que la frecuencia de este parámetro, fue muy irregular en los sujetos del grupo CTP a lo largo de los días del estudio (Fig. 35, B).

## ENCIMAMIENTO

### Hembras

En el caso de este parámetro conductual fue más evidente la menor frecuencia con la que se presentó en los sujetos del grupo CTP con respecto a los del grupo CONTROL. Se obtuvieron diferencias significativas para la condición experimental,  $F(1,14)=7.74$ ,  $p=0.01$  y edad,  $F(6,84)=76.54$ ,  $p=0.0001$ . Asimismo, para la interacción entre los factores condición experimental x edad,  $F(6,84)=2.21$ ,  $p=0.04$ ; edad x tipo de juego,  $F(6,84)=75.03$ ,  $p=0.01$  y tipo de juego x edad x condición experimental,  $F(6,84)=2.99$ ,  $p=0.01$ . Después de realizado el análisis post hoc se obtuvo que la menor frecuencia del encimamiento en las ratas del grupo CTP con respecto a las del grupo CONTROL fue significativa en los días **25** y **30** de edad, solamente en el juego de pareja sin cambios significativos en el juego de conjunto (Fig. 36, A).

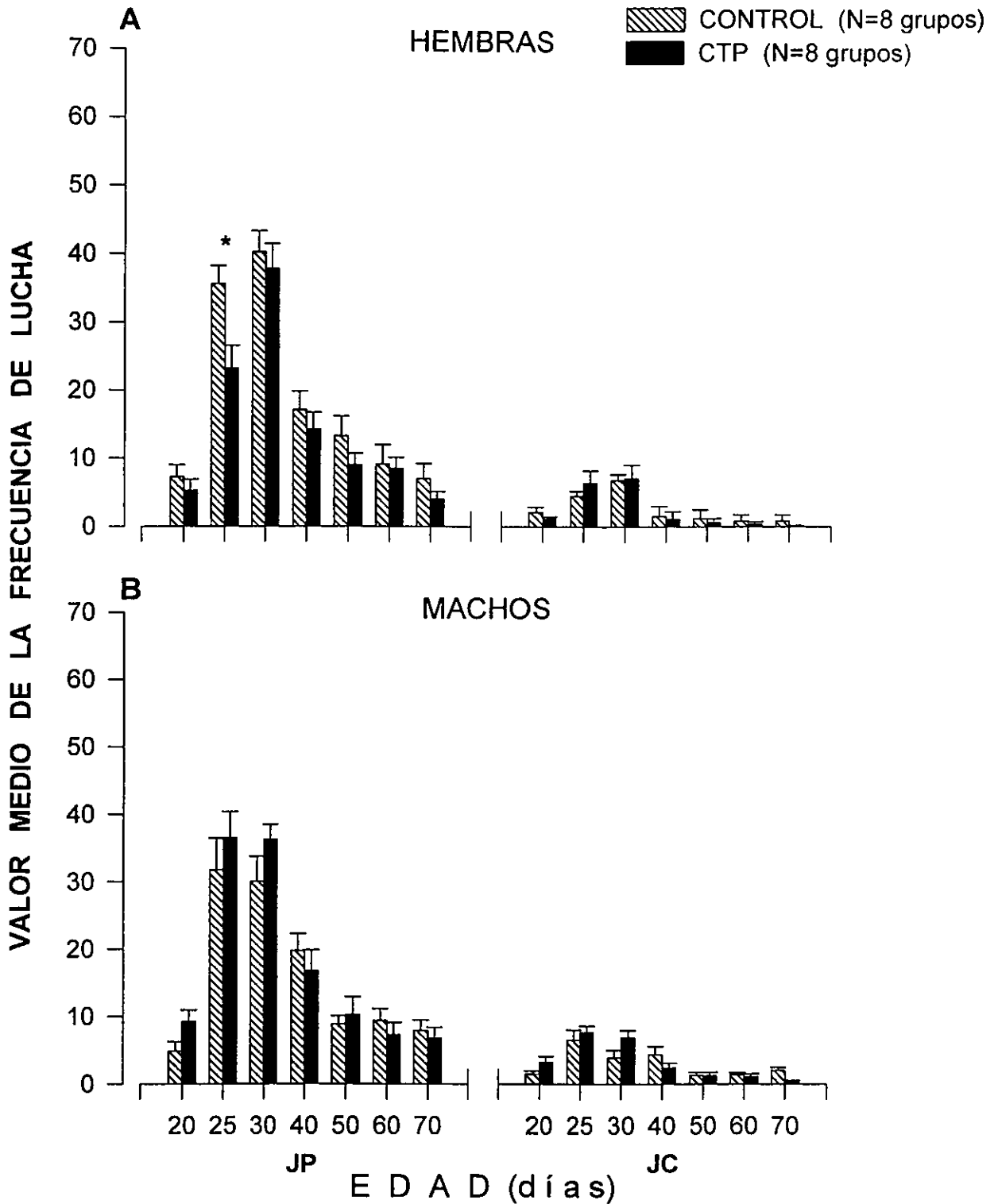


Fig. 35. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia de la lucha en hembras (A) y machos (B). La frecuencia de la lucha sólo fue significativamente menor (\*) en las hembras controles con termocauterización paranasal (CTP) en el día 25 de edad en el jugo de pareja (JP). En los machos no se obtuvieron diferencias significativas.

## Machos

El encimamiento en los machos fue significativamente diferente para la condición experimental,  $F(1,14)=40.03$ ,  $p=0.0001$ ; edad,  $F(6,84)=90.26$ ,  $p=0.01$  y para las interacciones entre los factores edad x condición experimental,  $F(6,84)=11.23$ ,  $p=0.0001$ ; tipo de juego x edad,  $F(6,84)=59.91$ ,  $p=0.0001$  y tipo de juego x edad x condición experimental,  $F(6,84)=3.65$ ,  $p=0.002$ . La frecuencia del encimamiento también fue menor en los sujetos del grupo CTP con respecto a los del grupo CONTROL y esta diferencia fue significativa de acuerdo al análisis post hoc en los días **25, 30 y 40** de edad en el juego de pareja. Asimismo, en el día **30** de edad en el juego de conjunto (Fig. 36, B).

### *Efectos de la termocauterización paranasal sobre el desarrollo de los componentes del juego total durante el período prepuberal y postpuberal*

Al igual que en los grupos experimentales anteriores también se realizó la comparación estadística de la frecuencia del juego total (boxeo, lucha y encimamiento) durante la etapa prepuberal y postpuberal. Todas las comparaciones se realizaron considerando un solo factor, por ejemplo, cuando se comparó el juego en cada una de las etapas con respecto a la condición experimental, no se consideró el sexo, ni el tipo de juego.

Los resultados mostraron diferencias con respecto a la condición experimental, así la frecuencia del juego total fue significativamente menor en los sujetos del grupo CTP con respecto a los del grupo CONTROL en ambas etapas, prepuberal,  $F(1,30)=9.05$ ,  $p=0.005$  y postpuberal,  $F(1,30)=9.88$ ,  $p=0.004$  (Fig. 37, A). Con respecto al sexo no hubo diferencias significativas, aunque el juego tendió a ser más frecuente en los machos con respecto a las hembras (Fig. 37, B). Sin embargo, para el tipo de juego también se obtuvieron diferencias significativas; el juego de pareja fue más frecuente que el de conjunto en la etapa prepuberal,  $F(1,31)=518.71$ ,  $p=0.0001$  y en la postpuberal,  $F(1,31)=117.86$ ,  $p=0.0001$  (Fig. 37, C).

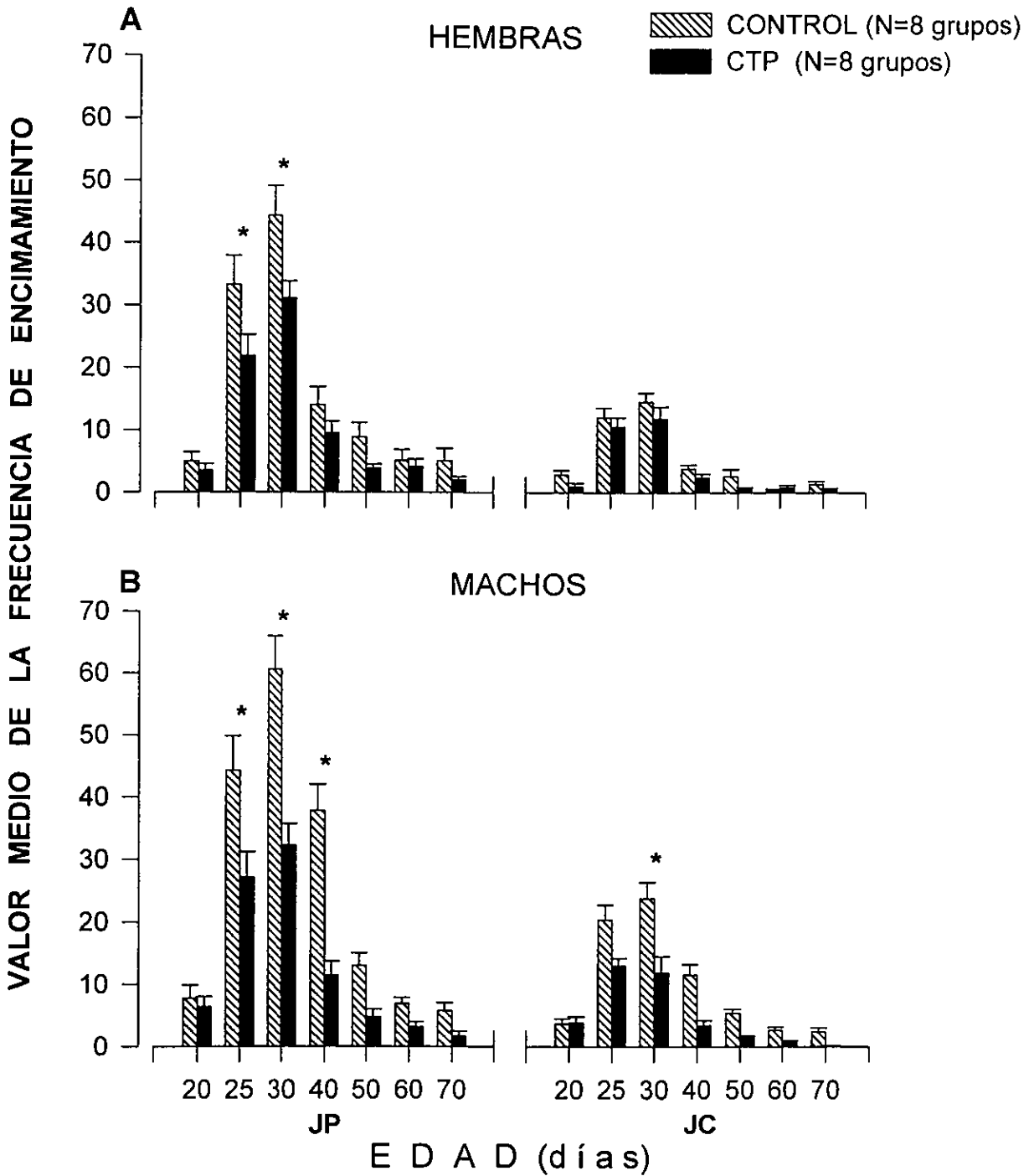


Fig. 36. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia del encimamiento en ratas hembras (A) y machos (B) controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL) y controles con termocauterización paranasal (CTP). La frecuencia de este parámetro decrementó significativamente (\*) en los sujetos CTP, en el caso de las hembras en los días 25 y 30 en el juego de pareja (JP), y en los machos en los días 25, 30 y 40 en el JP y en el día 30 de edad en el juego de conjunto (JC).

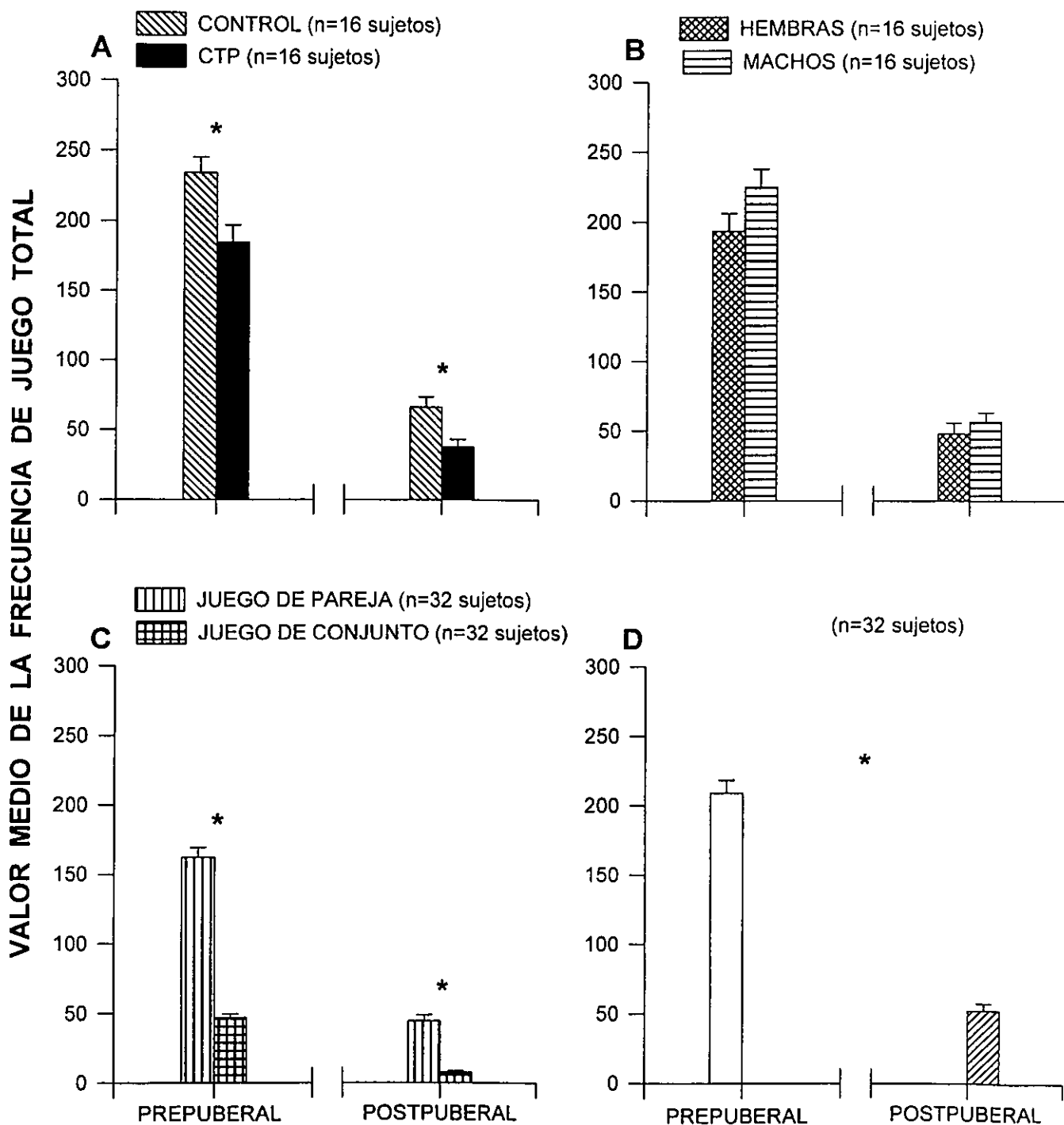


Fig. 37. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia de juego total en las etapas pre y postpuberal, con respecto a la condición experimental (A), al sexo (B), al tipo de juego (C) y al período peripuberal. Las diferencias significativas (\*) muestran un decremento en los sujetos controles con termocauterización paranasal (CTP) vs los CONTROL, en el juego de conjunto vs el de pareja en ambas etapas, y en el juego postpuberal con respecto al prepuberal.

Finalmente, se comparó la frecuencia de juego total en la etapa prepuberal vs la postpuberal, obteniéndose que en la primera el juego fue significativamente mayor con respecto a la segunda etapa,  $F(1,31)=415.19$ ,  $p=0.0001$  (Fig. 37, D).

### *Efectos de la termocauterización paranasal sobre los contactos físicos recibidos durante los periodos interjuego*

La comparación estadística de los contactos registrados en la nuca, flancos, pelvis y dorso a lo largo de los días del estudio, se muestra en la Tabla 3.

De acuerdo al análisis post hoc se observó que en las hembras hubo diferencias significativas para los contactos en la **nuca** presentándose con mayor frecuencia en las ratas del grupo CTP con respecto a los del grupo CONTROL en los días **25** y **30** de edad (Fig. 38, A). Sin embargo, los contactos en los **flancos** fueron significativamente menos frecuentes en los sujetos del grupo CTP con respecto a los del grupo CONTROL, en las hembras las diferencias fueron significativas en el día **50** de edad (Fig. 38, C), y en los machos en el día **30** de edad (Fig. 38, D). La frecuencia de los contactos en la **pelvis** al igual que la de la nuca fue mayor en los sujetos del grupo CTP con respecto a los del grupo CONTROL, pero en este caso las diferencias fueron significativamente diferentes sólo en los machos, en los días **30**, **50** y **60** de edad (Fig. 38, F).

Para el caso de los contactos en el **dorso**, el análisis post hoc mostró que las diferencias significativas para los contactos que se presentaron entre parejas de hembras fueron en los días **20** y **40** de edad. La frecuencia de estos contactos fue menor en las hembras del grupo CTP con respecto a las del grupo CONTROL (Fig. 39, A). Paralelamente, no hubo diferencias en la frecuencia de los contactos en el dorso en conjunto. En el caso de los machos no se obtuvieron diferencias significativas en la frecuencia de los contactos tanto entre parejas como en conjunto (Fig. 39, B).



Tabla 3. Resultados del análisis estadístico (MANOVA) de los contactos ocurridos en 4 regiones del cuerpo durante los períodos interjuego, en sujetos controles y con termocauterización paranasal.

		HEMBRAS			MACHOS		
		gl	F	p	gl	F	p
<b>NUCA</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	28.90	0.0001*	(1,14)	1.43	0.251
	EDAD	(6,84)	2.58	0.024*	(6,84)	5.46	0.0001*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	2.11	0.050*	(6,84)	0.84	0.536
<b>FLANCOS</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	12.51	0.003*	(1,14)	12.07	0.003*
	EDAD	(6,84)	2.05	0.067	(6,84)	3.68	0.002*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	1.75	0.118	(6,84)	1.54	0.174
<b>PELVIS</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	1.24	0.282	(1,14)	28.75	0.0001*
	EDAD	(6,84)	4.45	0.0001*	(6,84)	2.96	0.011*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	2.09	0.061	(6,84)	3.41	0.004*
<b>DORSO</b> (PAREJA)	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	4.45	0.050*	(1,14)	0.00	0.982
	EDAD	(6,84)	7.36	0.0001*	(6,84)	81.03	0.0001*
	EDAD x CONDICIÓN EXP.	(6,84)	3.97	0.002*	(6,84)	0.14	0.990
<b>(CONJUNTO)</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	0.35	0.562	(1,14)	2.88	0.111
	EDAD	(6,84)	11.49	0.0001*	(6,84)	25.84	0.0001*
	EDAD x CONDICIÓN EXP.	(6,84)	1.06	0.392	(6,84)	0.72	0.629

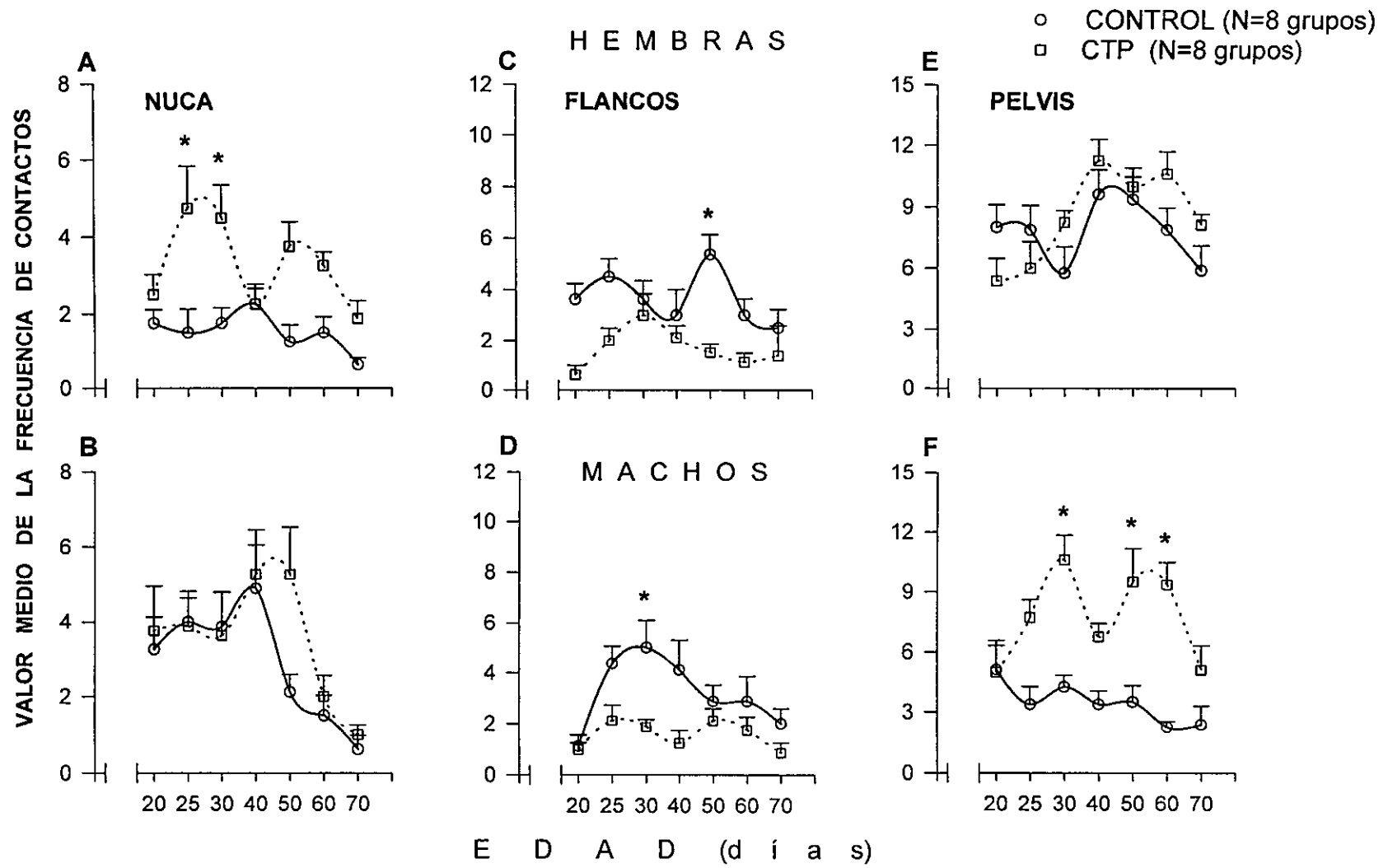


Fig. 38. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia de los contactos ocurridos en hembras y en machos, en la nuca (A y B), flancos (C y D) y pelvis (E y F). En algunos casos los contactos se presentaron con mayor frecuencia en los sujetos controles con termocauterización paranasal (CTP) vs CONTROL sin ninguna manipulación experimental, estas diferencias fueron significativas (\*) en algunos de los días del registro para el caso de los contactos en la nuca en hembras y en la pelvis en los machos. Sin embargo, para el caso de los contactos en los flancos, éstos fueron menos frecuentes en los sujetos CTP.

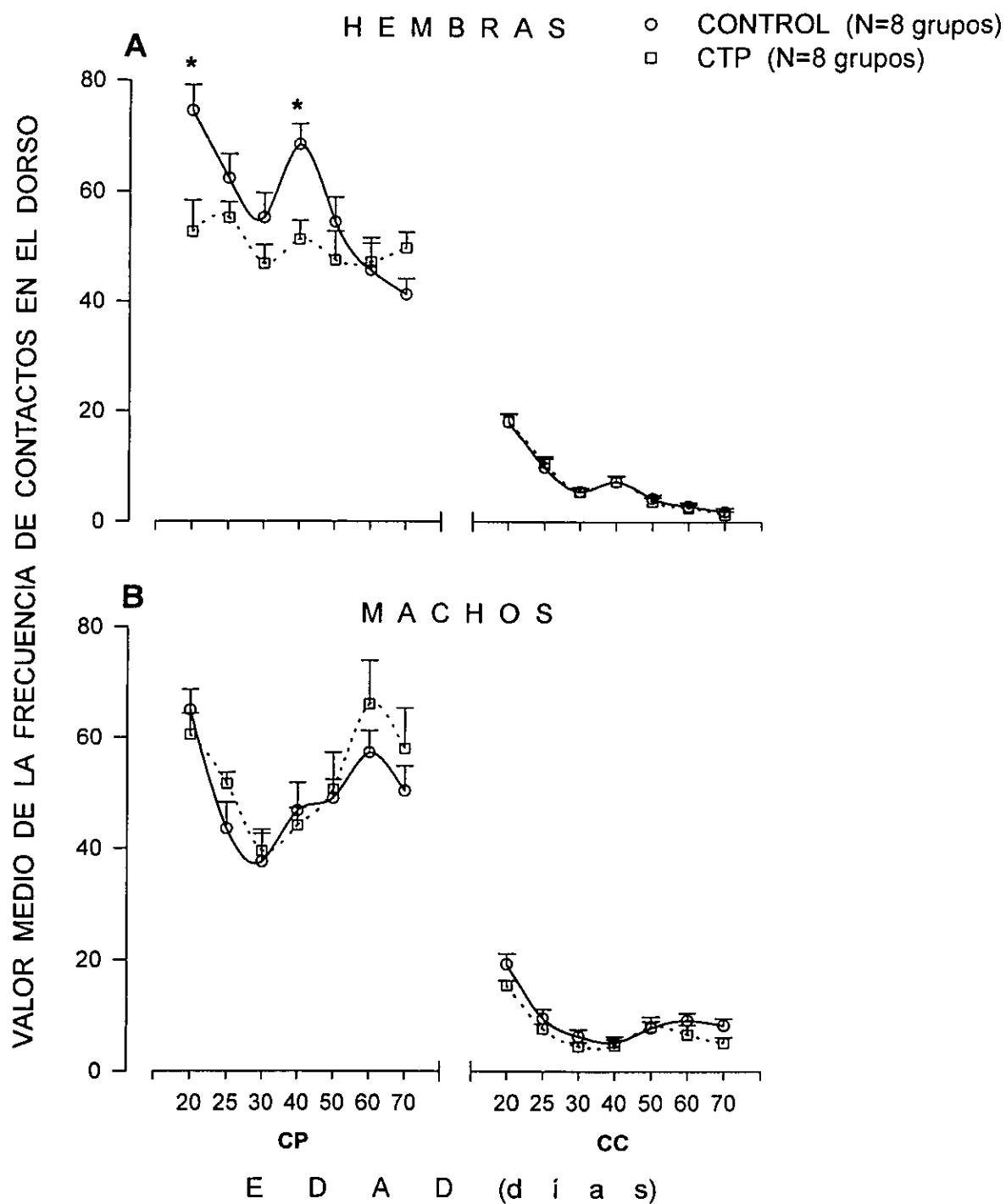


Fig. 39. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia de los contactos en el dorso entre parejas (CP) o en conjunto (CC) en hembras (A) y en machos (B). Nótese que sólo se obtuvieron diferencias significativas (\*) en las hembras. La frecuencia fue significativamente menor en las ratas controles con termocauterización paranasal (CTP) vs CONTROL sin ninguna manipulación experimental en los días 20 y 40 de edad, solamente para los contactos entre parejas de ratas.

### *Efectos de la termocauterización paranasal sobre la capacidad de olfacción*

Tanto en hembras como en machos, no hubo diferencias significativas en cuanto a la capacidad de olfacción de los sujetos del grupo CTP con respecto a los del grupo CONTROL en ninguna de las 2 edades en las que se realizó esta prueba (Fig. 40, A y B). Este hallazgo muestra que la termocauterización paranasal no modificó la capacidad de olfacción.

### *Efectos de la termocauterización paranasal sobre el largo, ancho y el peso húmedo de los BO*

Los datos obtenidos del largo, ancho y el peso húmedo de los BO también se compararon de 2 maneras diferentes. Una de ellas fue la comparación de los BO del mismo sujeto, es decir los BO del lado en el que se realizó la termocauterización paranasal vs los BO contralaterales. El otro tipo de comparación se realizó con las medidas de los BO de diferentes sujetos (BO del lado en el que se realizó la termocauterización paranasal con respecto a los BO de los sujetos del grupo CONTROL). En los sujetos de 30 días de edad no se obtuvieron diferencias significativas en ninguna de las tres mediciones cuando se compararon los BO de los mismos sujetos (Fig. 41, A, B y C). Sin embargo, en la comparación de BO de diferentes sujetos, solamente en el caso de las hembras el **largo** de los BO fue significativamente menor,  $F(1,14)=10.13$ ,  $p=0.007$  en las del grupo CTP con respecto a las del grupo CONTROL. En el caso de los machos no hubo cambios significativos en ninguna de las 3 mediciones (Fig. 41, D, E y F). A los 70 días postparto, tampoco se obtuvieron diferencias significativas en el largo, ancho y peso húmedo de los BO de los mismos sujetos del grupo CTP (Fig. 42, A, B y C). No obstante en el otro tipo de comparación con BO de diferentes sujetos, se obtuvieron cambios estadísticamente significativos en el **largo**,  $F(1,14)=16.86$ ,  $p=0.001$  y **peso húmedo**,  $F(1,14)=4.99$ ,  $p=0.042$  en las hembras, y en el **ancho**,  $F(1,14)=6.09$ ,  $p=0.027$  de los machos, en ambos casos los valores de dichas medidas y peso húmedo de los BO de los sujetos

del grupo CTP fueron mayores con respecto a las de los BO de los sujetos del grupo CONTROL (Fig. 42, D, E y F).

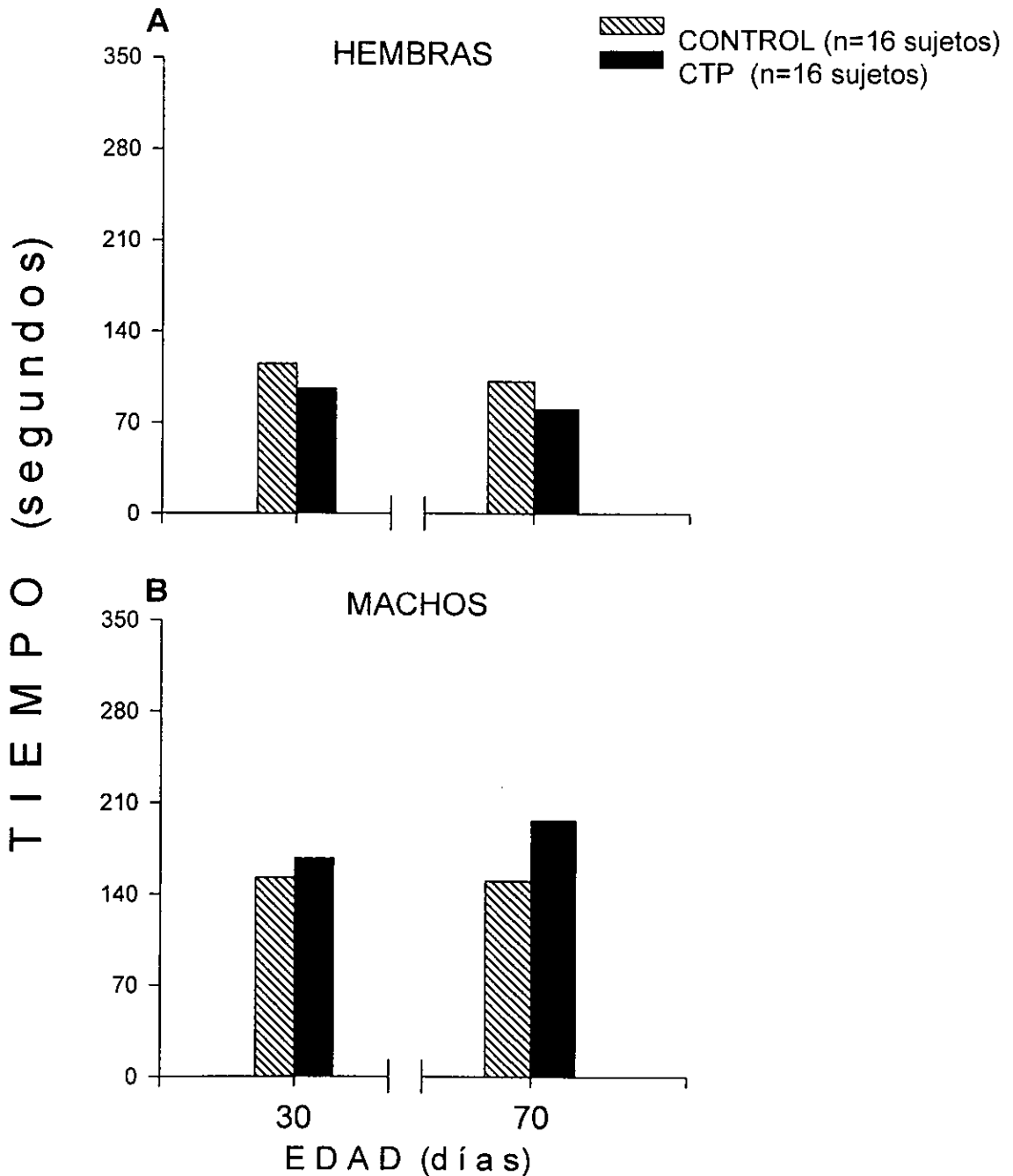


Fig. 40. Valores de la mediana del tiempo en segundos, que les lleva a las ratas hembras (A) y machos (B) de ambas condiciones experimentales para encontrar un pedazo de galleta. Obsérvese, que no hubo diferencias significativas en ninguna de las 2 edades en las que se realizó la prueba, en ambos sexos.

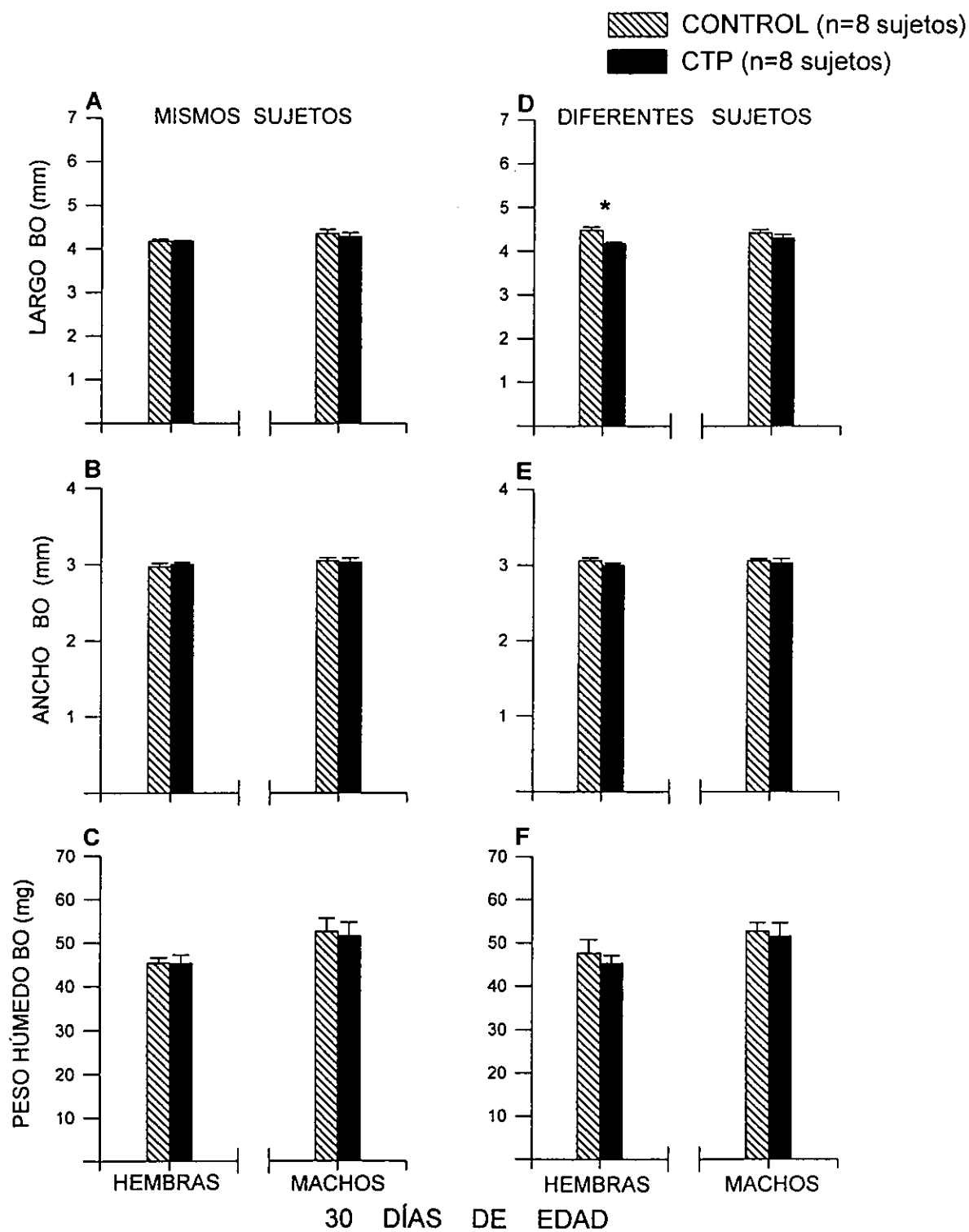


Fig. 41. Valores medios  $\pm$  error estándar del largo, ancho y peso húmedo de los BO de ratas de 30 días de edad del grupo control con termocauterización paranasal (CTP) vs control sin ninguna manipulación experimental (CONTROL) de ambos sexos, de los mismos sujetos (A, B y C) y de diferentes sujetos (D, E y F). En estos últimos el largo de los BO de las hembras fue significativamente menor (\*) en los del grupo CTP vs CONTROL. En los demás casos no hubo cambios significativos.

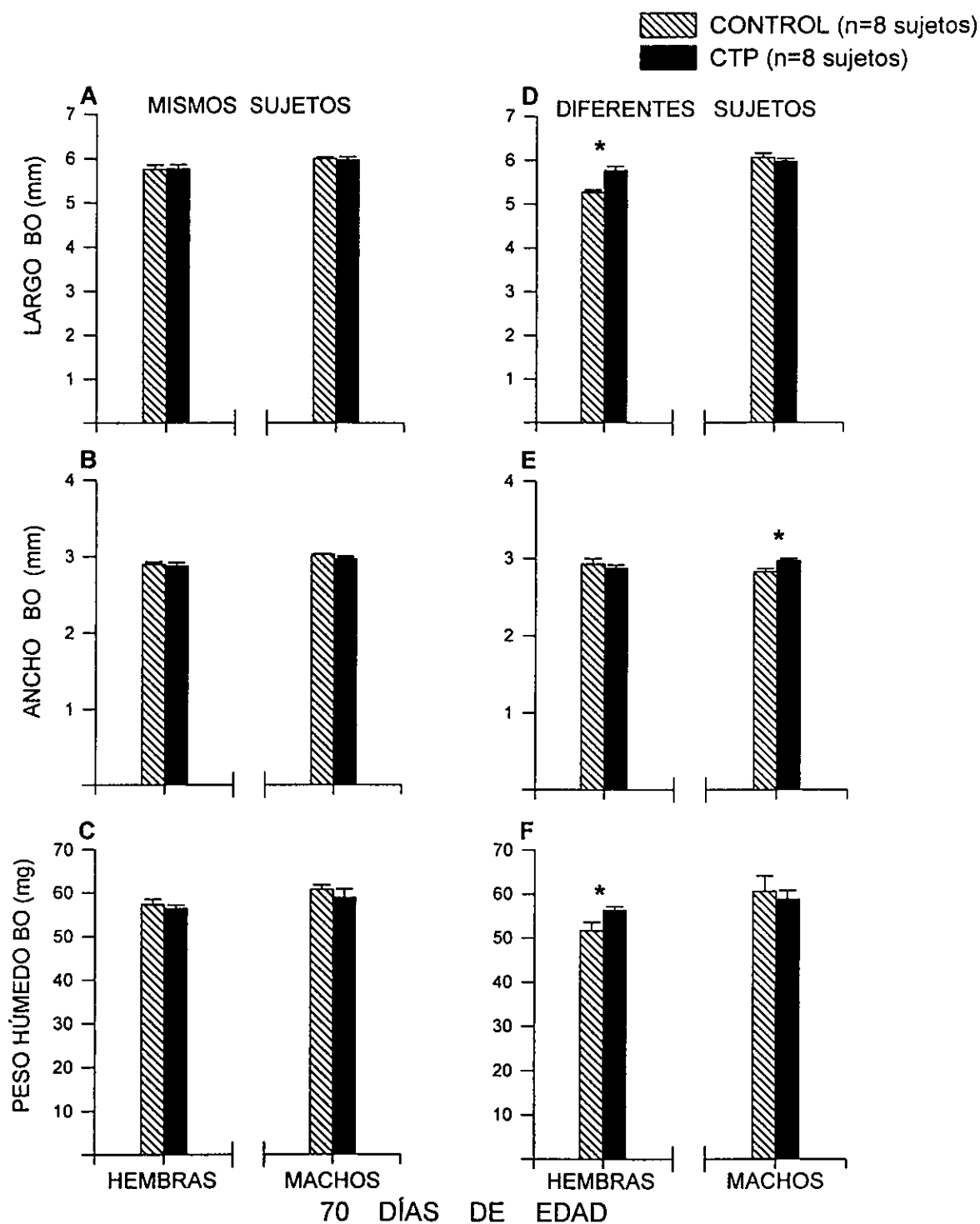


Fig. 42. Valores medios  $\pm$  error estándar del largo, ancho y peso húmedo de los BO de ratas de 70 días de edad de ambos sexos. Los datos de los BO de los mismos sujetos (A; B y C) y de diferentes sujetos (D, E y F) muestran que sólo se obtuvieron diferencias significativas (\*) cuando la comparación se hizo entre diferentes sujetos, en el largo y peso húmedo en las hembras y en el ancho de los BO en los machos. Estas medidas fueron mayores en los sujetos controles con termocauterización paranasal (CTP) con respecto a los controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL).

## SECCIÓN 2

### Simulación de estimulación olfatoria libre

#### *Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre el desarrollo físico*

##### Hembras

El peso corporal de las hembras del grupo control sin ningún tipo de manipulación experimental (CONTROL) con respecto a los del grupo control con simulación de estimulación olfatoria libre (CsEOL) fue significativamente diferente con respecto a la condición experimental,  $F(1,62)=11.57$ ,  $p=0.001$  y a la edad,  $F(9,558)=5558.39$ ,  $p=0.01$ . Asimismo, para la interacción entre los factores condición experimental x edad,  $F(9,558)=5.40$ ,  $p=0.0001$ . El peso corporal de las hembras del grupo CsEOL fue en general menor con respecto a las del grupo CONTROL, el análisis post hoc indicó que estas diferencias se presentaron en los días **40**, **60** y **70** de edad.

##### Machos

Las comparaciones de los datos obtenidos del peso corporal de los machos fue significativamente diferente para la condición experimental,  $F(1,62)=11.57$ ,  $p=0.001$ , para la edad,  $F(9,558)=5558.39$ ,  $p=0.01$  y para la interacción entre estos dos factores,  $F(9,558)=5.40$ ,  $p=0.0001$ . De acuerdo al análisis post hoc en los machos sólo se obtuvo diferencia significativa en el día **70** de edad, el peso corporal también tendió a disminuir en los sujetos del grupo CsEOL con respecto a los del grupo CONTROL (Fig. 43, B).

Con respecto a la apertura total de oídos y de párpados se obtuvieron mayores cambios en las hembras *versus* los machos. El porcentaje de animales que abrieron totalmente los oídos y los párpados fue significativamente menor en los sujetos del grupo CsEOL con respecto a los del grupo CONTROL. En las hembras dichas diferencias significativas ( $p<0.05$ ) fueron en los días **15** y **17** para la apertura de oídos y en los días **17** y **19** para la apertura de párpados (Fig 44, A y B). En los machos la diferencia sólo se presentó en el día **15** de edad para la apertura de oídos (Fig. 44, C).



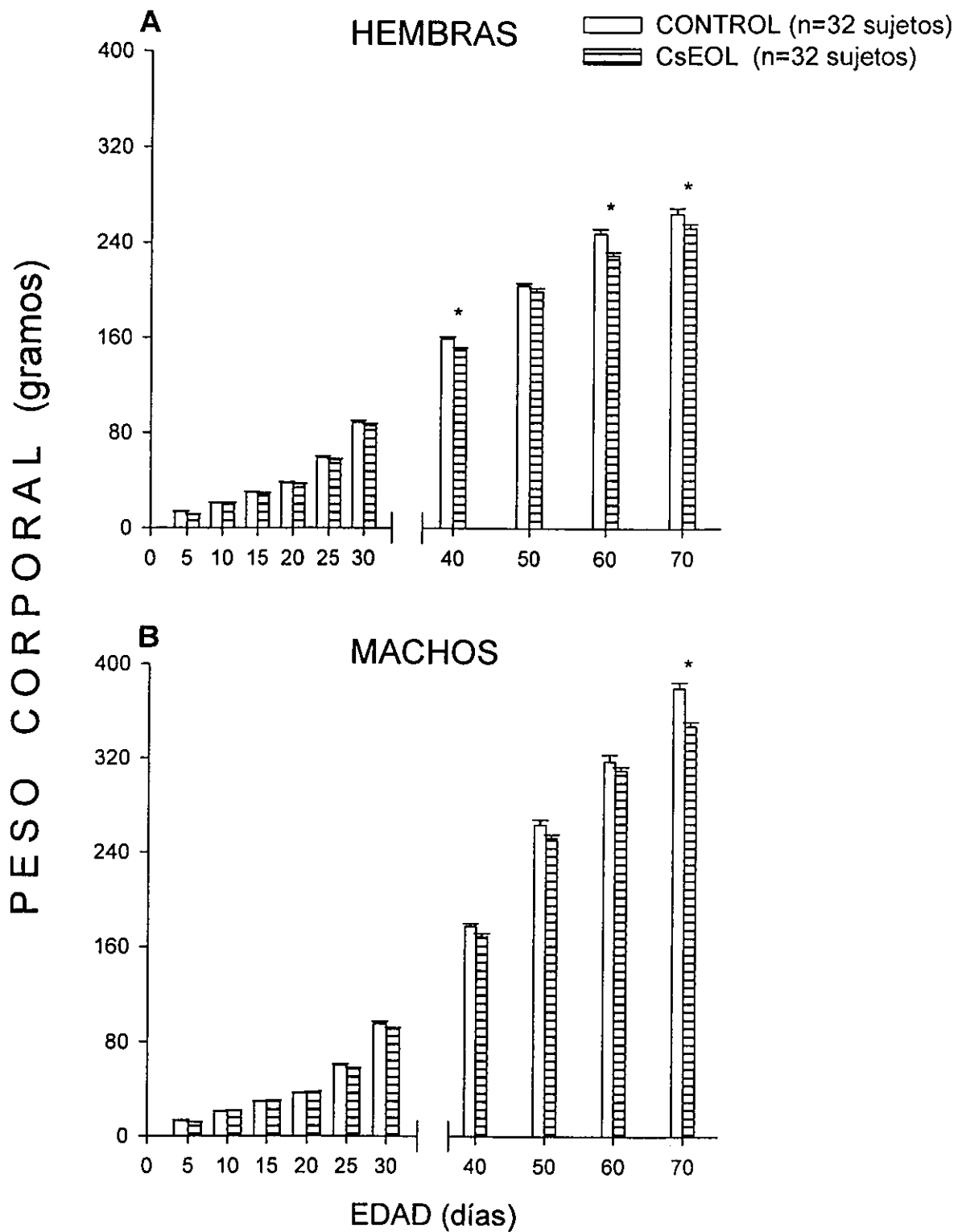


Fig. 43. Valores de la media  $\pm$  error estándar del peso corporal de ratas hembras (A) y machos (B), CONTROL sin ninguna manipulación experimental y controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL). El peso corporal de los sujetos CsEOL decrementó significativamente (\*) con respecto a los CONTROL en los días 40, 60 y 70 en las hembras y en el día 70 de edad en los machos.

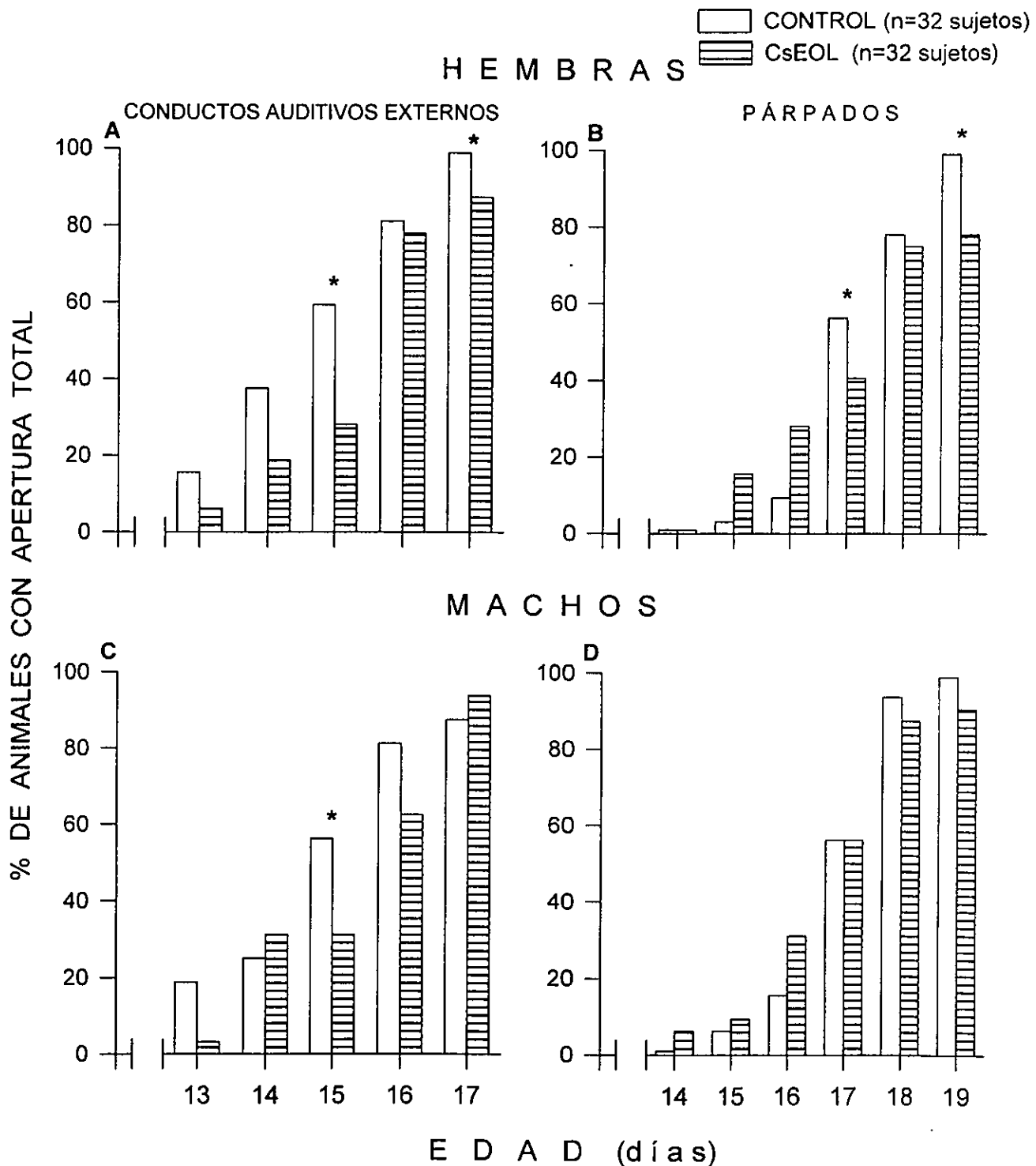


Fig. 44. Porcentaje de ratas con apertura total de conductos auditivos externos y párpados en hembras (arriba) y machos (abajo). El porcentaje de animales que presentaron la apertura total de estos canales sensoriales fue significativamente (\*) menor en los del grupo control con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL).

*Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre el desarrollo de los componentes del juego*

## **BOXEO**

### Hembras

En general la frecuencia con la que se presentó el boxeo en las hembras tendió a ser mayor en las del grupo CsEOL con respecto a la del grupo CONTROL. Los resultados obtenidos del análisis estadístico indicaron que este parámetro conductual fue significativamente diferente con respecto a la condición experimental,  $F(1,14)=7.82$ ,  $p=0.014$  y a la edad,  $F(6,84)=5.85$ ,  $p=0.0001$ . La interacción entre estos dos factores no mostró diferencias significativas. Posteriormente, se compararon los datos mediante una prueba post hoc, la cual no indicó diferencias significativas en ninguno de los días de registro (Fig. 45, A).

### Machos

En el caso de los machos los resultados del análisis estadístico no indicaron diferencias significativas para la condición experimental, pero sí para la edad,  $F(6,84)=5.86$ ,  $p=0.0001$ . Tampoco hubo diferencias para la interacción entre estos dos factores. Sin embargo, se observó que en algunos de los días del registro el boxeo en los sujetos del grupo CsEOL tendió a incrementarse mientras que en otros días tendió a disminuir (Fig. 45, B).

## **LUCHA**

### Hembras

Este patrón conductual también fue más frecuente en los sujetos del grupo CsEOL con respecto a los del grupo CONTROL. Se obtuvieron diferencias significativas

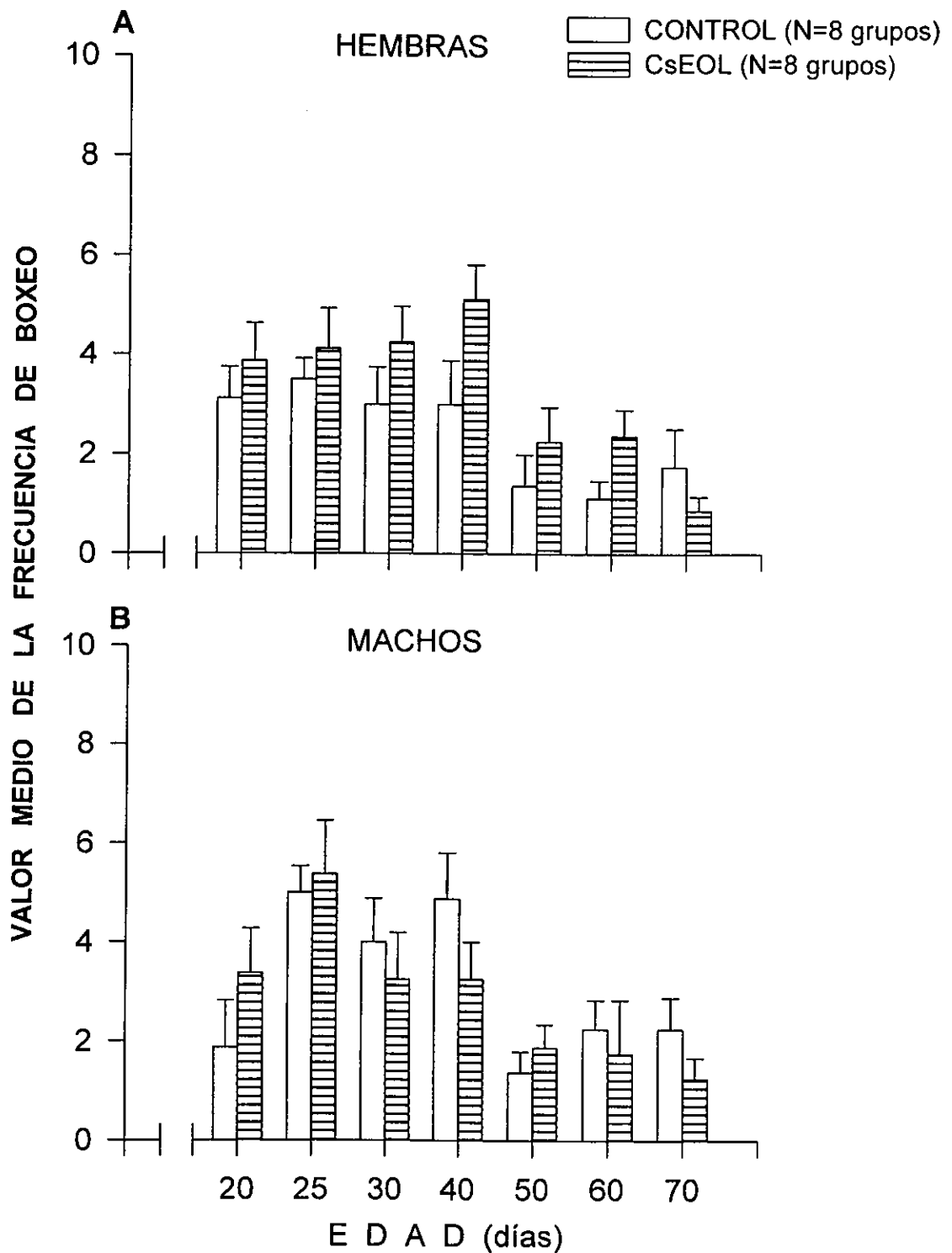


Fig. 45. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia del boxeo, en ratas hembras (A) y machos (B). La frecuencia de este parámetro solamente tendió a ser mayor en las hembras y menor en los machos controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL) con respecto a los del grupo control sin ninguna manipulación experimental (CONTROL).

para los factores; tipo de juego,  $F(1,14)=236.61$ ,  $p=0.0001$  y edad,  $F(6,84)=87.06$ ,  $p=0.01$ . También para las interacciones entre la edad x condición experimental,  $F(6,84)=4.51$ ,  $p=0.0001$ ; tipo de juego x edad,  $F(6,84)=54.86$ ,  $p=0.0001$  y para el tipo de juego x edad x condición experimental,  $F(6,84)=2.20$ ,  $p=0.04$ . El análisis post hoc mostró que la lucha fue significativamente mayor en las ratas del grupo CsEOL con respecto a las del grupo CONTROL en los días 25 y 40 de edad en el juego de pareja (Fig. 46, A). Sin cambios significativos en el juego de conjunto.

### Machos

Para el caso de los machos las diferencias fueron significativas para los siguientes factores e interacciones; factor condición experimental,  $F(1,14)=15.21$ ,  $p=0.001$ ; tipo de juego,  $F(1,14)=336.62$ ,  $p=0.0001$ ; edad,  $F(6,84)=68.31$ ,  $p=0.0001$ , y tipo de juego x condición experimental,  $F(1,14)=14.74$ ,  $p=0.001$ ; edad x condición experimental,  $F(6,84)=3.14$ ,  $p=0.008$ ; tipo de juego x edad,  $F(6,84)=60.96$ ,  $p=0.0001$  y tipo de juego x edad x condición experimental,  $F(6,84)=2.95$ ,  $p=0.01$ . El análisis post hoc indicó que la frecuencia de la lucha en los machos del grupo CsEOL fue significativamente mayor con respecto a los del grupo CONTROL, en los días 25, 30 y 40 de edad sólo en el juego de pareja (Fig. 46, B).

## ENCIMAMIENTO

### Hembras

La frecuencia del encimamiento también fue significativamente diferente para la condición experimental,  $F(1,14)=7.42$ ,  $p=0.01$ , tipo de juego,  $F(1,14)=225.63$ ,  $p=0.0001$  y edad,  $F(6,84)=89.65$ ,  $p=0.01$ , así como para la interacción edad x condición experimental,  $F(6,84)=4.10$ ,  $p=0.001$  y edad x tipo de juego,  $F(6,84)=46.06$ ,  $p=0.0001$ .

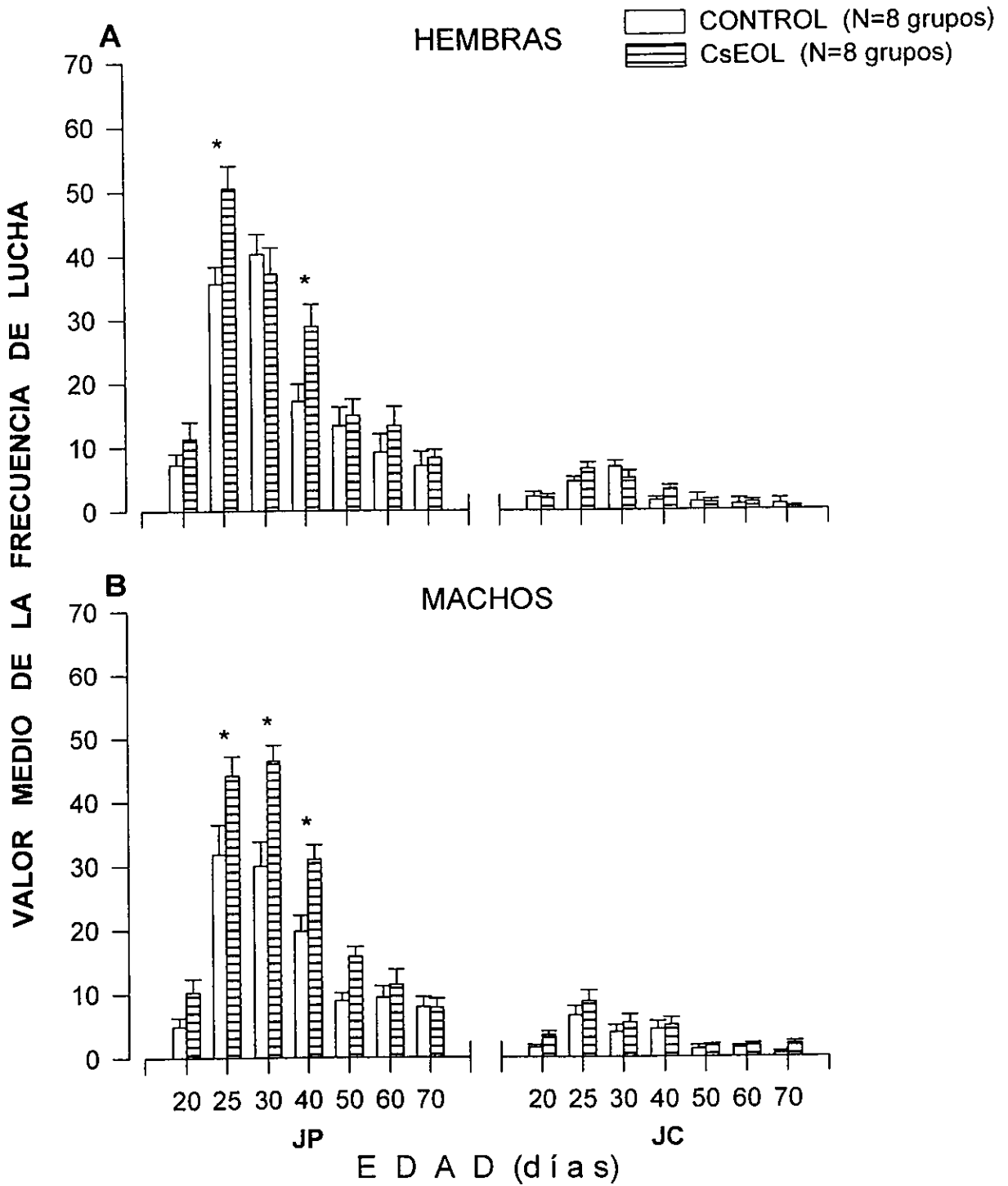


Fig. 46. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia de la lucha en ratas hembras (A) y machos (B). La lucha se presentó con mayor frecuencia en los sujetos controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL) con respecto a los controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL), siendo significativa esta diferencia (\*) en los días 25 y 40 en las hembras y en los días 25, 30 y 40 de edad en los machos, solamente para el juego de pareja (JP).

En las hembras la frecuencia del encimamiento también fue mayor en las del grupo CsEOL con respecto a las del grupo CONTROL, siendo significativa esta diferencia en los días 25 y 40 de edad, en el juego de pareja y en el día 25 en el juego de conjunto (Fig. 47, A).

#### Machos

Con relación al encimamiento en los machos se obtuvieron diferencias significativas para la condición experimental,  $F(1,14)=6.27$ ,  $p=0.025$ , tipo de juego,  $F(1,14)=256.95$ ,  $p=0.0001$  y edad,  $F(6,84)=89.50$ ,  $p=0.01$ ; y para la interacción tipo de juego x edad,  $F(6,84)=47.39$ ,  $p=0.0001$ . Para este sexo y parámetro conductual, en general la frecuencia fue menor en los sujetos del grupo CsEOL con respecto a los del grupo CONTROL, indicando el análisis post hoc que dicha diferencia fue significativa en el día 30 de edad únicamente en el juego de pareja (Fig. 47, B).

#### *Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre el desarrollo de los componentes del juego total durante el período prepuberal y postpuberal*

Como ya se había venido mencionando, la frecuencia del juego total ocurrido durante los períodos pre y postpuberal se ha comparado considerando únicamente un factor, en este caso se hizo de la misma manera.

La frecuencia del juego total fue significativamente diferente para la condición experimental, en este caso el juego fue mayor en los sujetos del grupo CsEOL con respecto a los del grupo CONTROL,  $F(1,30)=5.68$ ,  $p=0.024$ , sólo en el período prepuberal (Fig. 48, A). No se encontraron diferencias significativas con respecto al factor sexo. Sin embargo, la frecuencia del juego de pareja fue significativamente mayor con respecto al de conjunto en ambas etapas prepuberal,  $F(1,31)=716.32$ ,  $p=0.0001$  y postpuberal,  $F(1,31)=175.11$ ,  $p=0.0001$  (Fig. 48, C) y de manera general el juego fue más frecuente durante el período prepuberal vs el postpuberal,  $F(1,31)=481.17$ ,  $p=0.0001$  (Fig. 48, D).

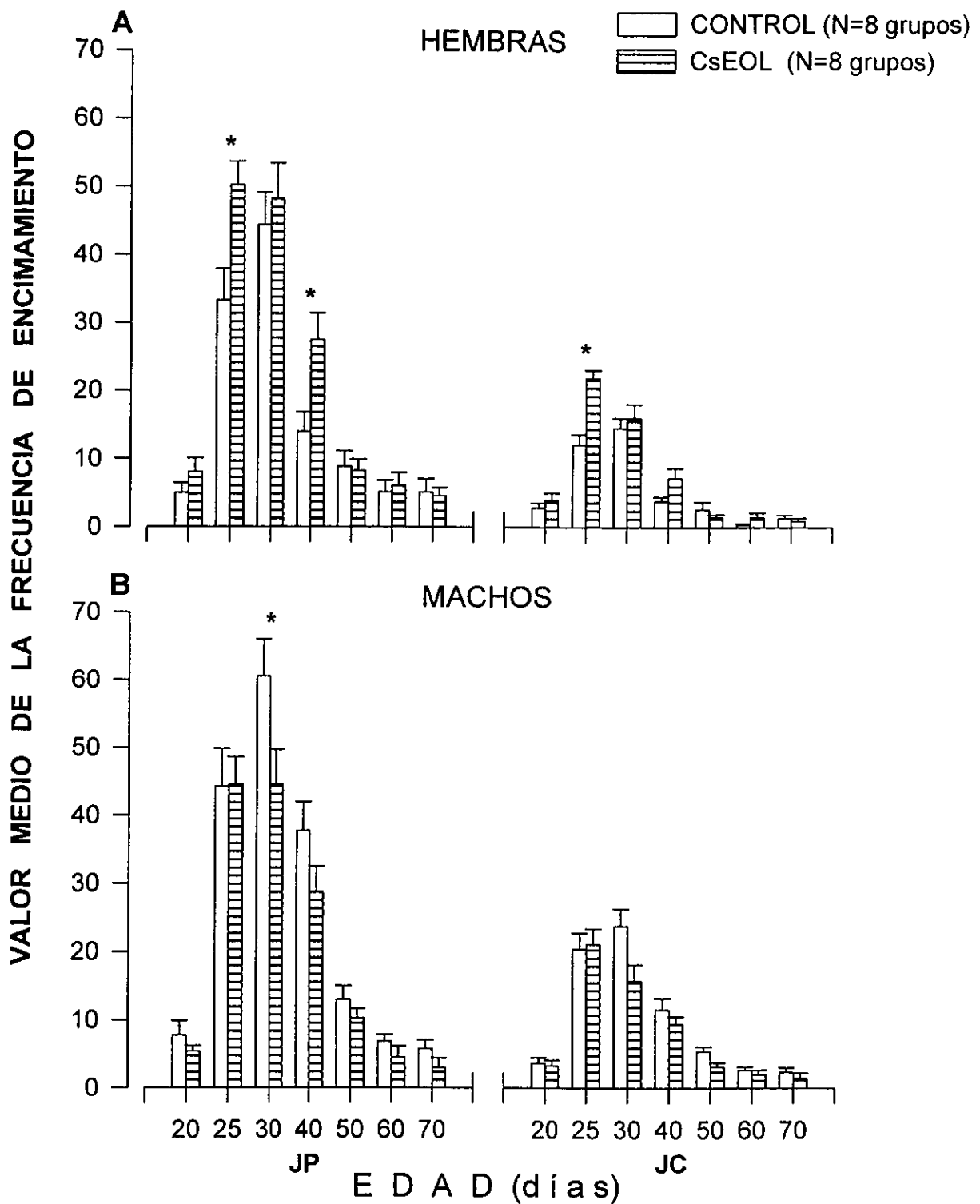


Fig. 47. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia del encimamiento en ratas hembras (A) y machos (B). La frecuencia de este parámetro en los sujetos controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL), incrementó en las hembras y decrementó en los machos con respecto a los controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL), siendo significativas estas diferencias (\*) en algunos de los días de registro en los 2 tipos de juego.



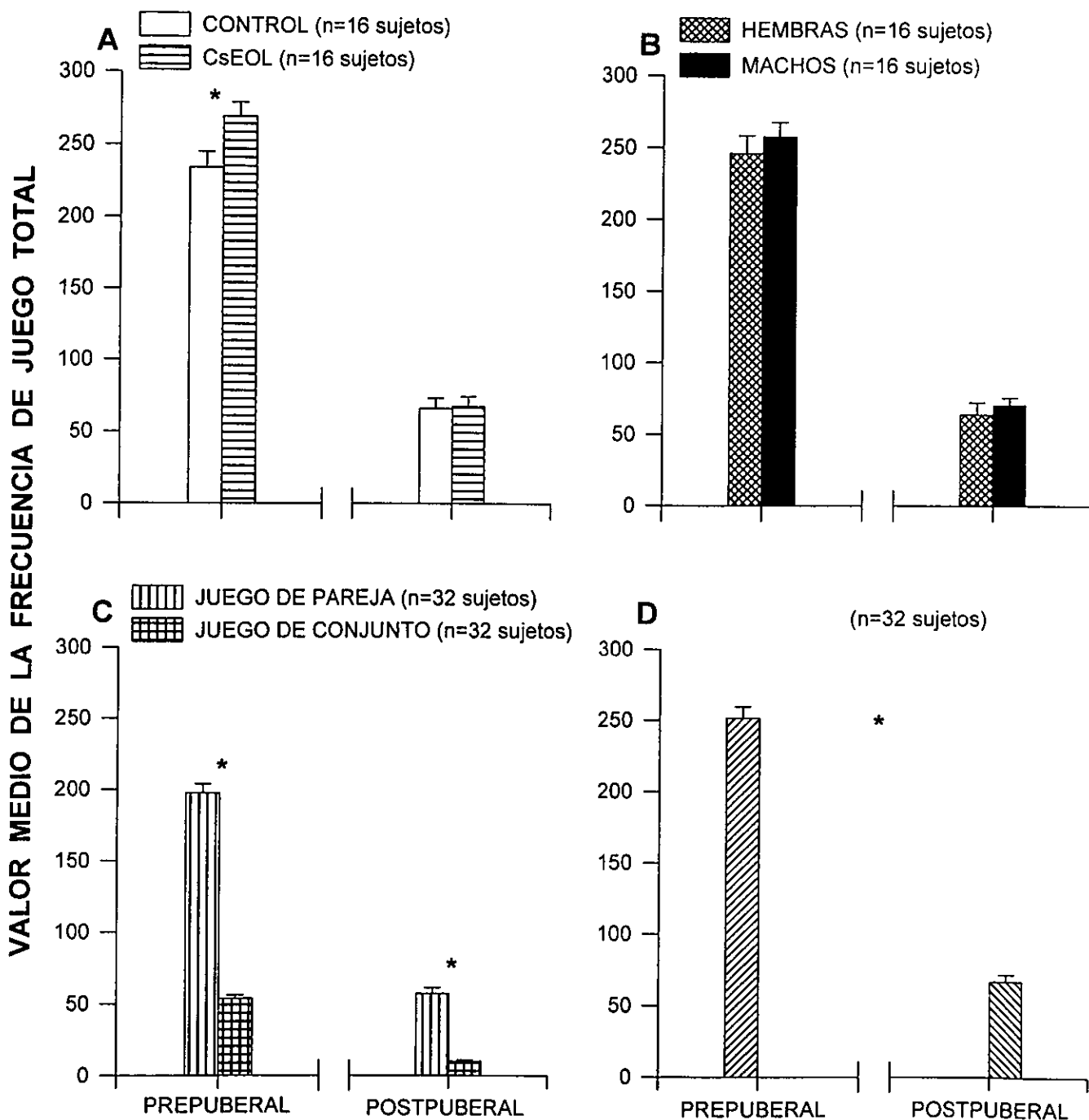


Fig. 48. Valores de la media  $\pm$  error estándar de la frecuencia del juego total en las etapas pre y postpuberal, el juego de los sujetos controles con simulación de estimulación olfatoria (CsOE) fue significativamente mayor (\*) con respecto a los controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL) en la etapa prepuberal (A), no hubo diferencias relacionadas al sexo (B). El juego de pareja fue significativamente mayor vs el de conjunto en ambas etapas (C). El juego que se presentó durante el período prepuberal, también fue significativamente mayor con respecto al que ocurrió en el período postpuberal (D).

### *Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre los contactos físicos recibidos durante los períodos interjuego*

Los resultados obtenidos del análisis estadístico de los contactos en la nuca, flancos, pelvis y dorso con respecto a la condición experimental, edad, e interacción entre estos dos factores, se muestran en la Tabla 4. En cuanto a los resultados del análisis post hoc, se observó que para el caso de los contactos en la **nuca**, sólo se obtuvieron diferencias significativas en las hembras. La frecuencia de estos contactos fue mayor en las del grupo CsEOL con respecto a las del grupo CONTROL en el día 30 de edad, (Fig. 49, A). La frecuencia de los contactos en los **flancos** no fue significativamente diferente con respecto a la condición experimental en ninguno de los 2 sexos (Fig. 49, C y D). Sin embargo, para los contactos en la **pelvis** se obtuvieron diferencias significativas sólo en los machos. La frecuencia de los contactos en esta región del cuerpo, fue significativamente mayor en los machos del grupo CsEOL con respecto a los del grupo CONTROL en los días **25, 40 y 70** de edad (Fig. 49, F).

La comparación estadística realizada mediante el análisis post hoc, para cada tipo de contactos en el **dorso** (pareja y conjunto), indicó cambios significativos únicamente en los machos. La frecuencia de los contactos en el dorso en pareja, fue significativamente mayor en los sujetos del grupo CsEOL con respecto a los del grupo CONTROL en los días, **50 y 70** de edad (Fig. 50, B).

### *Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre la capacidad de olfacción*

De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis estadístico de las latencias para encontrar un fragmento de galleta, no se modificó en los sujetos del grupo CsEOL, tanto en hembras como en machos de **30 y 70** días de edad. Este hallazgo mostró que la capacidad de olfacción no se alteró con la manipulación somatosensorial que recibieron los sujetos del grupo CsEOL (Fig. 51, A y B).

Tabla 4. Resultados del análisis estadístico (MANOVA) de los contactos ocurridos en 4 regiones del cuerpo durante los periodos interjuego, en sujetos controles y controles con simulación de estimulación olfatoria.

		HEMBRAS			MACHOS		
		gl	F	p	gl	F	p
<b>NUCA</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	43.38	0.0001*	(1,14)	0.04	0.831
	EDAD	(6,84)	4.94	0.0001*	(6,84)	4.31	0.0007*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	1.64	0.144	(6,84)	1.15	0.341
<b>FLANCOS</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	0.54	0.473	(1,14)	0.02	0.885
	EDAD	(6,84)	4.40	0.0001*	(6,84)	6.04	0.0001*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	3.00	0.010*	(6,84)	0.76	0.599
<b>PELVIS</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	10.66	0.005*	(1,14)	36.07	0.0001*
	EDAD	(6,84)	1.69	0.131	(6,84)	2.74	0.017*
	EDAD X CONDICIÓN EXP.	(6,84)	0.92	0.483	(6,84)	1.23	0.298
<b>DORSO</b> (PAREJA)	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	1.03	0.326	(1,14)	8.44	0.011*
	EDAD	(6,84)	14.72	0.0001*	(6,84)	9.79	0.0001*
	EDAD x CONDICIÓN EXP.	(6,84)	1.00	0.430	(6,84)	0.96	0.458
<b>(CONJUNTO)</b>	CONDICIÓN EXPERIMENTAL	(1,14)	0.51	0.486	(1,14)	0.86	0.368
	EDAD	(6,84)	40.63	0.0001*	(6,84)	16.09	0.0001*
	EDAD x CONDICIÓN EXP.	(6,84)	1.80	0.107	(6,84)	2.70	0.019*

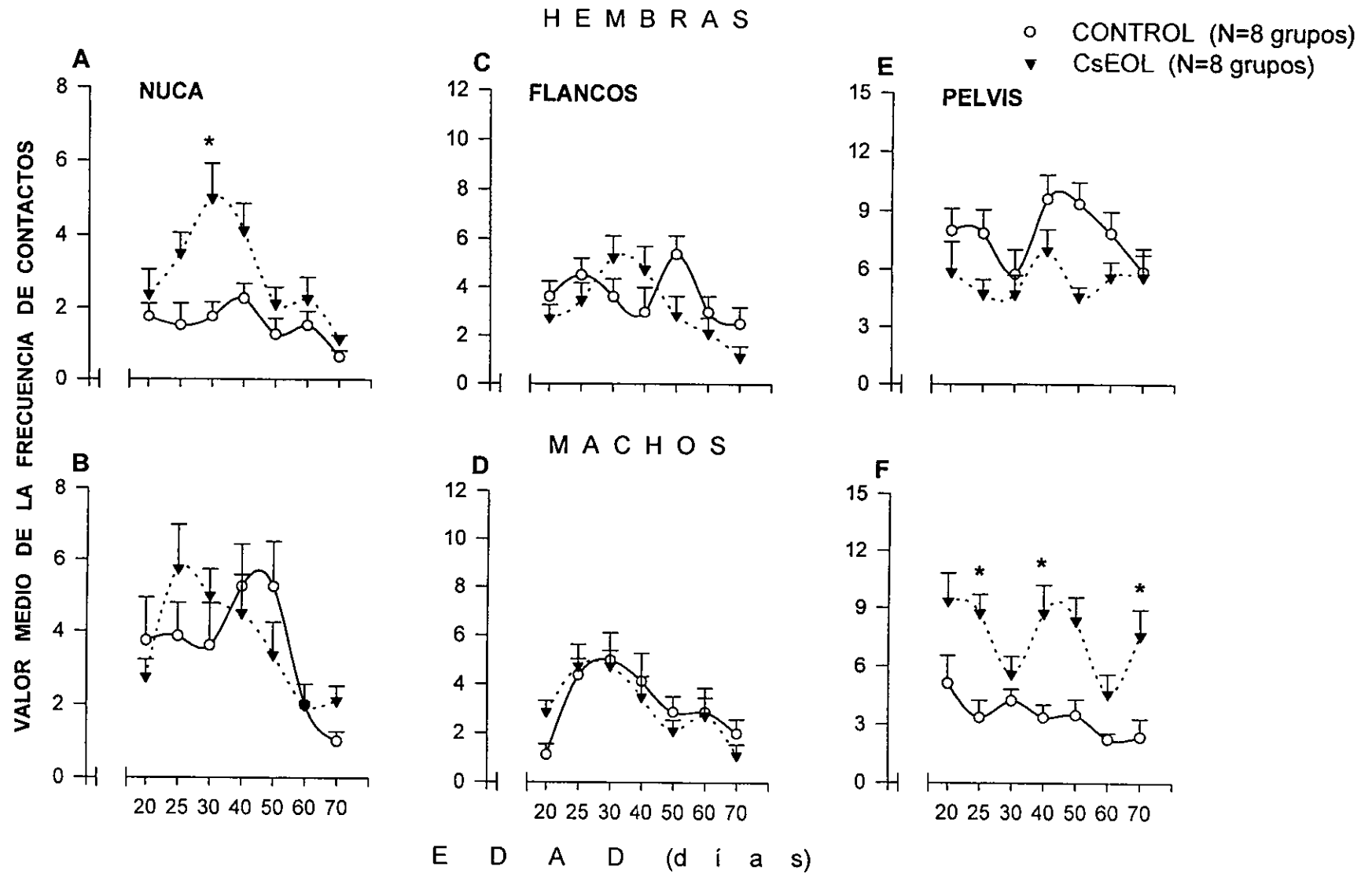


Fig. 49. Valores medios  $\pm$  error estándar de la frecuencia de los contactos ocurridos en la nuca, flancos y pelvis en hembras y en machos. La frecuencia de los contactos en la nuca en las hembras y en la pelvis en los machos fue significativamente mayor (\*) en los sujetos controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL) vs los controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL).

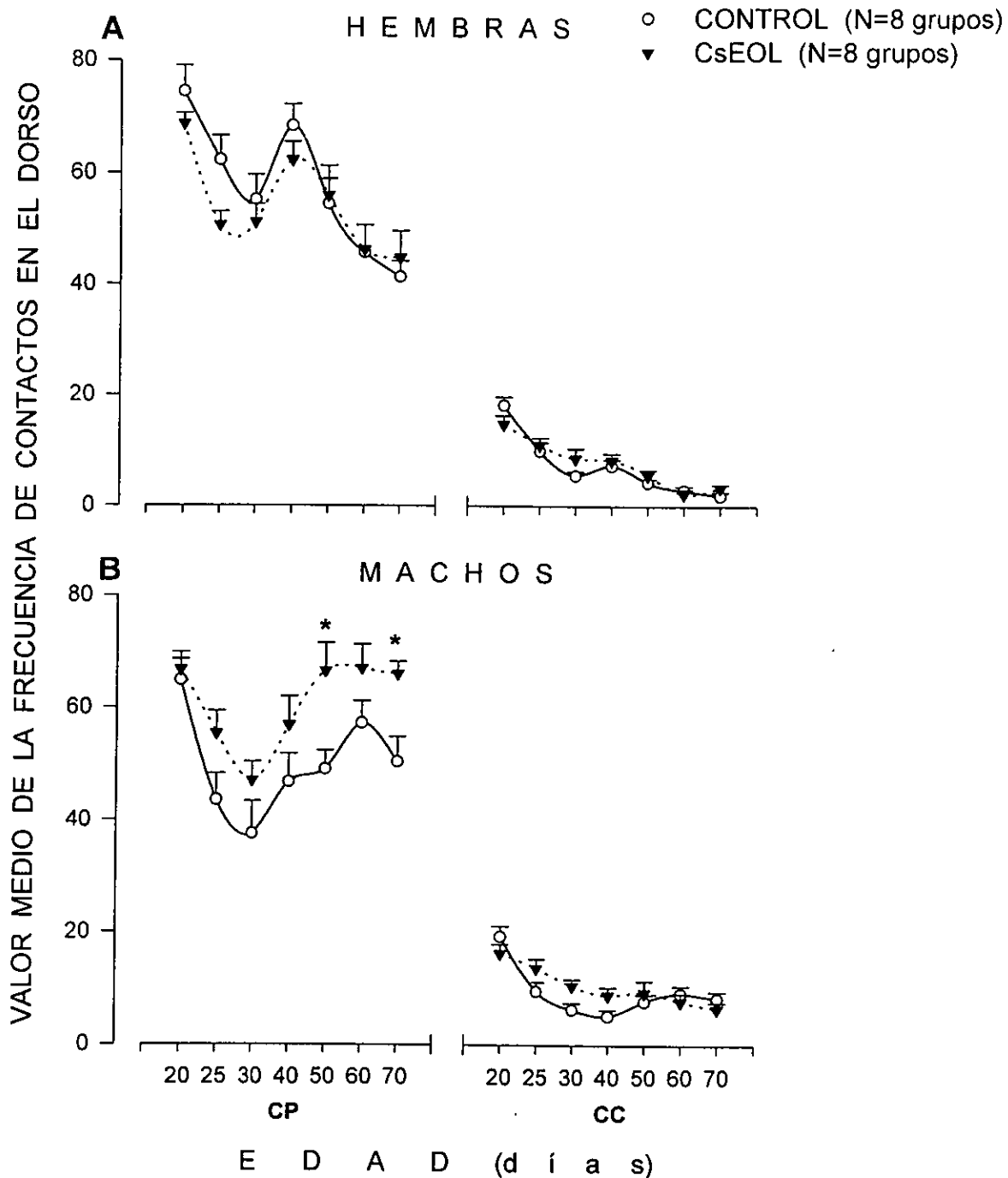


Fig. 50. Valores de la media  $\pm$  error estándar de los contactos en el dorso. Este tipo de contactos fueron en general más frecuentes en los sujetos controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL) vs los controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL). Obteniéndose diferencias significativas (\*) sólo en los días 50 y 70 de edad para los contactos que se presentaron entre parejas (CP) de machos.

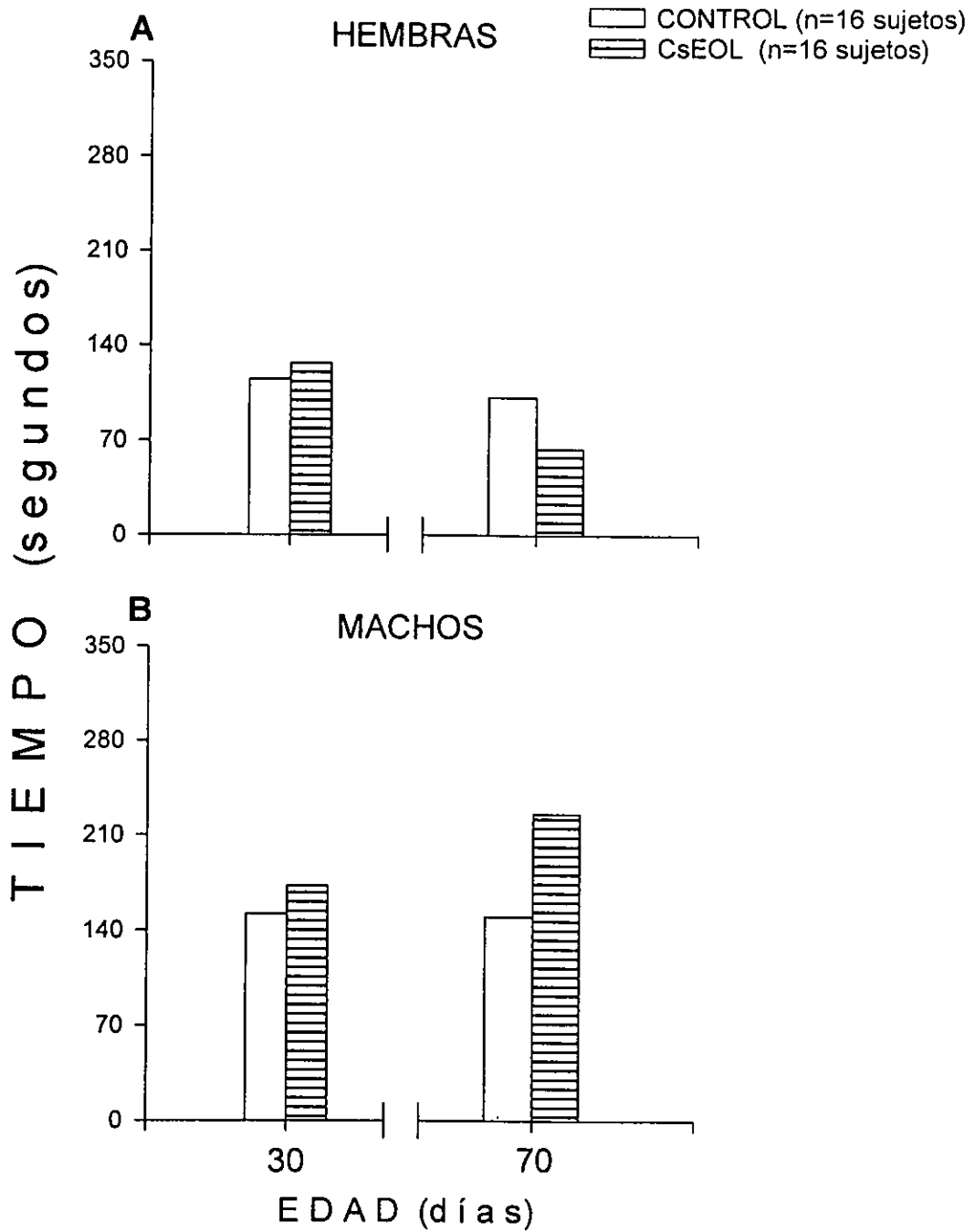


Fig. 51. Valores de la mediana del tiempo que les llevó a las ratas hembras (A) y machos (B) para encontrar un pedazo de galleta. En general se observó que las ratas controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL) tienden a presentar latencias mayores para encontrar un pedazo de galleta con respecto a los controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL), sin embargo no se obtuvieron diferencias significativas en ninguna de las 2 edades.

*Efectos de la simulación de estimulación olfatoria libre sobre el largo, ancho y peso húmedo de los BO*

Los BO de las ratas CsEOL de **30** días de edad fueron más pequeños con respecto a los del grupo CONTROL. En el caso de las hembras esta diferencia fue significativa para el **largo**,  $F(1,14)=6.85$ ,  $p=0.020$  y el **ancho**,  $F(1,14)=24.30$ ,  $p=0.0001$ ; y en los machos en el **peso húmedo**,  $F(1,14)=4.80$ ,  $p=0.046$  (Fig. 52, A, B y C). Sin embargo, los BO de los sujetos del grupo CsEOL de **70** días de edad en algunas de las mediciones tendieron a ser más pequeños y en otros más grandes. No obstante, el análisis estadístico indicó que las diferencias fueron significativas para el caso de los BO del grupo CsEOL que fueron más grandes con respecto a los del grupo CONTROL, estas diferencias fueron para el **largo**,  $F(1,14)=10.72$ ,  $p=0.006$  en las hembras y para el **ancho**,  $F(1,14)=13.08$ ,  $p=0.003$  en los machos (Fig. 52, D y E).

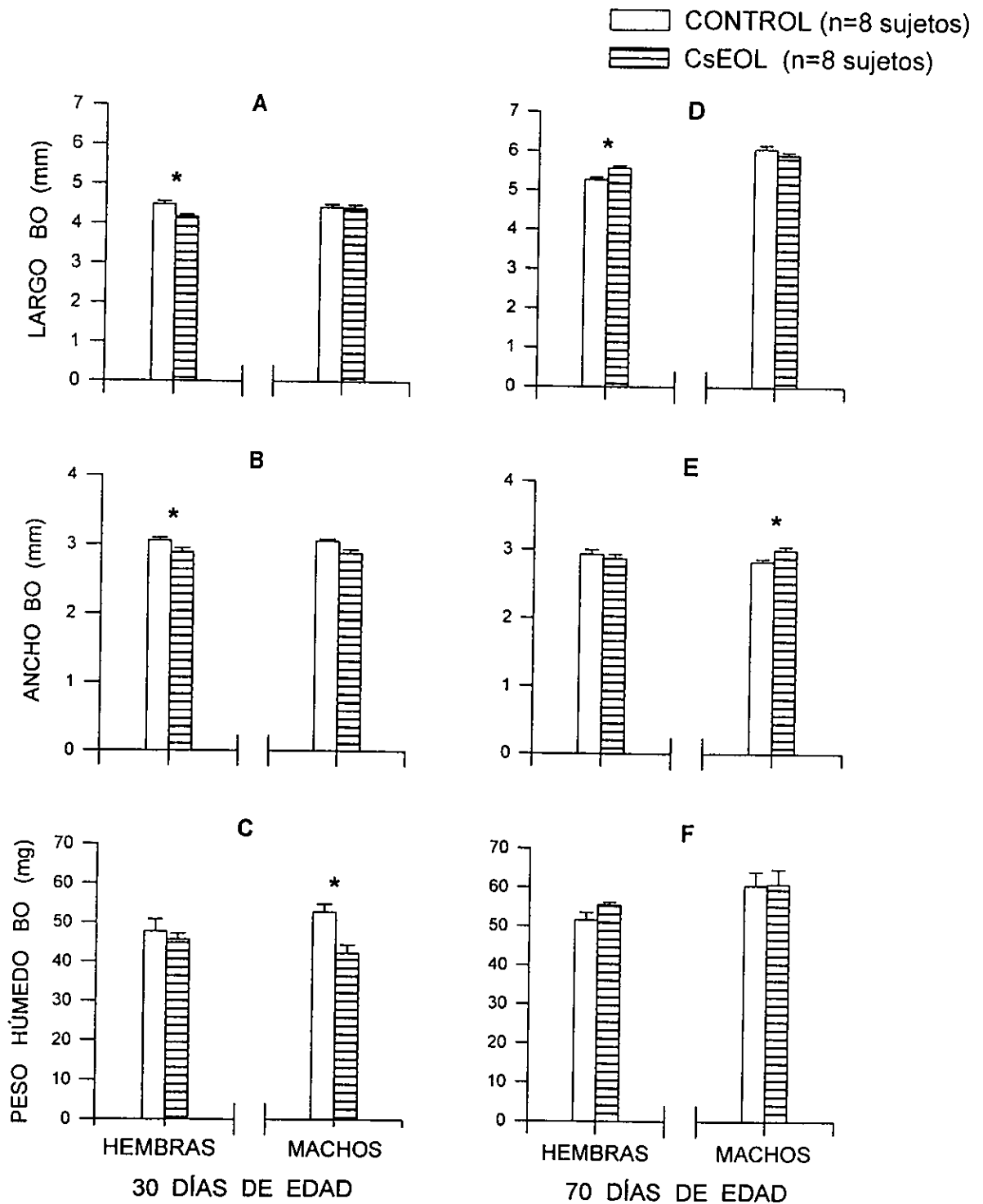


Fig. 52. Valores de la media  $\pm$  error estándar del largo, ancho y peso húmedo de los BO de ratas hembras y machos controles sin ninguna manipulación experimental (CONTROL) y controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL) de 30 días (derecha) y 70 días de edad (izquierda). Algunos de los valores de estas mediciones fueron significativamente (\*) menores en los sujetos CsEOL de 30 días y mayores en los de 70 días de edad de ambos sexos.



## DISCUSIÓN

Los hallazgos obtenidos del Experimento 1 en el que se compararon los grupos CTP vs ETPN, muestran que la termocauterización de un poro nasal en la rata recién nacida, provoca un retardo significativo en el desarrollo físico como pudo constatarse por la baja en la ganancia del peso corporal en algunos de los días en los que éstos se compararon. Asimismo, por el retardo en la apertura total de los conductos auditivos externos y de los párpados (Figs. 12 y 13). Estos efectos sobre el desarrollo físico pudieran estar correlacionados, ya que por diversos estudios se sabe que son interdependientes. Esto es, que el deterioro en el peso corporal y la talla producidos por ejemplo por la desnutrición perinatal, invariablemente se acompañan de retraso en la apertura y en el desarrollo de los oídos y de los ojos (Mourek y col., 1967; Franková, 1972; Salas y col., 1994; Escobar y Salas, 1995; Loranca y col., 1999; Torrero y col., 1999). En el presente estudio, la baja de peso corporal y el retardo en el desarrollo sensorial en el grupo ETPN vs CTP, es difícil de explicar por el momento dado su carácter multidependiente y la aparente contradicción que nuestros hallazgos tienen, con respecto al trabajo de Meisami (1976), quien no reportó alteraciones significativas en los valores del peso corporal de animales previamente cauterizados de un poro nasal.

Los hallazgos del presente estudio sobre la baja gradual del peso corporal a lo largo del desarrollo en el grupo ETPN, podrían explicarse sobre la base de un desbalance en el ingreso de las señales olfatorias, provocado por la termocauterización temprana de un poro nasal, que limita la activación del substrato neural del BO correspondiente, y una hiperactivación del mecanismo neuronal del BO contralateral a la termocauterización. Este desbalance en el ingreso olfatorio, estaría fundamentado en la reducción significativa en el tamaño y en el peso del BO ipsilateral al poro nasal ocluido, comparado con el BO contralateral que aquí se describieron (ver Figs. 21 y 22). Así, por observaciones preliminares de la conducta de animales adultos cauterizados tempranamente de un poro nasal, hemos encontrado que éstos incrementan sus

movimientos de inhalación a través del poro nasal abierto, orientándolo forzosamente hacia la fuente de olores para su percepción. Este desbalance en el ingreso olfatorio, resultaría en una reducción en la ingesta de alimento y consecuentemente en una baja significativa del peso corporal. Da fundamento a esta apreciación que durante la lactancia la duración de los períodos de succión de las crías termocauterizadas son más cortos, porque las crías tardan más tiempo en encontrar el pezón de la madre al no percibir de manera normal los olores (Cooper y Cowley, 1976). Otra explicación a nuestros hallazgos, sería que las crías hayan tenido períodos de succión muy interrumpidos por problemas de respiración y por lo tanto falta de aire al tener un poro nasal ocluido, lo cual pudo haber implicado que las crías dejaran de succionar constantemente para inhalar aire y poder continuar con la succión.

Otra posibilidad para explicar la baja del peso corporal en los animales ETPN, es que del lado del poro nasal no obliteratedo el BO recibiría un exceso de estímulos olfatorios en cada inhalación, promoviéndose posiblemente tanto a nivel periférico (BO), como centralmente (núcleo amigdalino) una acción moduladora que limitaría la descarga de las neuronas del núcleo dorsolateral hipotalámico (área alimentaria) y desinhibiría a las neuronas del núcleo ventromedial (área de la saciedad), provocando así una reducción en la ingesta de alimento (saciedad), que de manera crónica reduciría la ganancia en el peso corporal. Por el contrario en el lado del poro nasal obliteratedo y concurriendo con un BO atrofiado o hipofuncionante ipsilateral, se presentaría un efecto opuesto al lado contralateral, generándose finalmente un leve incremento en la ingesta de alimento, que sería rebasado por aquellas acciones que promueven la reducción en la ingesta de alimento del lado opuesto a la termocauterización. Esta posibilidad de un desbalance funcional entre ambas partes de la vía olfatoria sugerida por los presentes hallazgos, tiene fundamentos en los trabajos clásicos de Hetherington y Ranson, 1942; Anand y Brobeck, 1951, en los que la lesión o la estimulación eléctrica de los núcleos dorsolateral o ventromedial del hipotálamo y de la amígdala, son capaces de incrementar la ingesta de alimento, o la saciedad alimentaria del sujeto experimental con repercusiones importantes sobre los valores del peso corporal (Ganong, 1994). Sin

embargo, la participación que tienen los receptores ubicados en las paredes del estómago, del esófago, los de la parte alta del intestino y la descarga cortical sobre el mecanismo neural hipotalámico y las diferencias relacionadas con el sexo, aún es poco conocida y ameritará estudios complementarios.

En el caso del Experimento 2, el exceso en el ingreso de las señales olfatorias provocado por el acetato de amilo al que se expuso a los recién nacidos del día 3 al 19 de edad durante 10 min diarios, resultó en incrementos significativos en los valores del peso corporal al compararlos con los del grupo CsEOL, particularmente en el caso de los machos, con mínimas repercusiones en el peso de las hembras. Asimismo, estos efectos sobre el incremento en el peso corporal en general, mostraron poca correlación con los incrementos leves en la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados (Figs. 23 y 24). Por otra parte, estos cambios en el desarrollo físico pudieran estar relacionados con el incremento moderado en el tamaño y en el peso de los BO de los animales estimulados con acetato de amilo, comparados con los controles con simulación de estimulación (ver Fig. 31). Este tipo de efectos sería compatible con una acción directa del acetato de amilo sobre la citoarquitectura neuronal del BO, específicamente de los árboles dendríticos, de las neuronas mitrales y granulares pequeñas, que mantienen una importante división celular durante el período neonatal hasta cerca de los 3 meses de edad (Altman y col., 1969). En este sentido exponiendo a ratas recién nacidas por períodos de 10 min al día a una atmósfera saturada con acetato de amilo (3 ppm), se ha descrito un incremento en el número de las ramas de los árboles dendríticos de las células mitrales del BO (Panhuber y Laing, 1987). Por otra parte, se ha establecido que influencias nocivas perinatales como la desnutrición y la exposición a un exceso de acetoacetona, provocan efectos mínimos de deterioro sobre los árboles dendríticos de las neuronas mitrales, pero una reducción importante del número de neuronas granulares y de la formación de sinapsis de éstas con otros componentes celulares del BO que modulan el ingreso de las señales olfatorias (Math y Davrainville, 1980). Con base en estos antecedentes, consideramos que se provoca una sobreestimulación olfatoria al exponer a las crías a un ambiente saturado con

acetato de amilo, por una parte porque la manipulación experimental se realizó durante un período crítico para el desarrollo de la células del BO, tomando en cuenta que cualquier tipo de manipulación experimental por más pequeña que sea, cuando se realiza durante un período crítico de desarrollo provoca cambios conductuales a largo plazo, como se ha demostrado el realizar una muesca en la pinna de la rata recién nacida (Barnett y Burn, 1967). Por otra parte, porque el acetato de amilo emite un olor totalmente diferente a los que se encuentran en condiciones naturales, como lo sería el caso de otros olores que están fluctuando constantemente en el entorno ambiental y que en consecuencia forman parte de él, como lo sería el caso del olor a orina y excremento.

Sobre la base de un posible daño a la población de neuronas granulares y a los árboles dendríticos de las células mitrales provocado por la exposición repetida a un exceso de estimulación con acetato de amilo, sería factible que el deterioro celular resultara en una deficiente descarga neuronal hacia los núcleos amigdalinos. La deficiencia, reduciría la inhibición que estos ejercen sobre el grupo neuronal del núcleo dorsolateral hipotalámico incrementando la ingesta de alimento. Asimismo, se aumentaría la descarga neuronal hacia el complejo neuronal del núcleo ventromedial hipotalámico, reduciéndose su descarga y provocando la disminución de la sensación de saciedad del animal, e incrementando así la ingesta de alimento (Ganong, 1994). Como en el caso del Experimento 1, esta moderada ganancia en el peso corporal asociada a la exposición postnatal diaria a un ambiente saturado con acetato de amilo, requerirá de estudios adicionales analizando otras fuentes de estímulos corporales concurrentes capaces de regular la ingesta de alimento.

Cabe mencionar que un aspecto relevante en el presente trabajo, fue el tener conocimiento de que la sólo manipulación experimental, es decir el termocauterizar otra área cercana a la fosa nasal o el simple hecho de manipular a los animales para exponerlos a una cámara de aire puro, produce cambios significativos sobre el desarrollo de la conducta de juego. De esta manera podemos tener la certeza de que

los resultados obtenidos de los experimentos 1 y 2 en los que se compararon los sujetos controles con termocauterización paranasal (CTP) con respecto a los experimentales con termocauterización de una fosa nasal (ETPN), y los controles con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL) con respecto a los estimulados con acetato de amilo (EEOL), están relacionados con la reducción o el aumento de estímulos olfatorios respectivamente.

Con relación a los efectos sobre el desarrollo de la conducta de juego, provocados por la termocauterización de un poro nasal en las ratas recién nacidas del Experimento 1, los hallazgos mostraron efectos moderados de incremento en el juego asociados a la maniobra experimental. En efecto, las alteraciones en el desarrollo del juego, se limitaron a un incremento significativo en el boxeo en el caso de los machos, en la frecuencia de la lucha en las hembras en el día 30 de edad, y de incrementos significativos en el encimamiento en el caso de las hembras y de menor magnitud en el caso de los machos (Figs. 14, 15 y 16), posiblemente porque la oclusión de un poro nasal provocó un daño al BO que mantiene una estrecha conexión con la mayoría de las estructuras límbicas involucradas en el juego, privaría parcialmente de información específica a ese substrato neuronal, incrementando la frecuencia del juego y revirtiendo así los efectos de reducción del mismo asociados al exceso de estimulación sensorial proveniente de la madre (Beatty y col, 1982; Beatty y Costello, 1983; Loranca y col., 1999). Siguiendo esta misma línea de pensamiento en los animales del grupo CTP que tuvieron sólo una lesión de termocauterización paranasal, asociada a la estimulación sensorial materna y de un exceso de lamido paranasal de las regiones aledañas, los efectos sobre la expresión de los componentes del juego fueron en el sentido de reducir significativamente o provocar una franca tendencia a reducir el juego social al compararlos con los sujetos del grupo CONTROL que no recibieron ningún tipo de manipulación experimental (Figs. 34, 35 y 36). Asimismo, que el substrato estructural sobre el que se integran cada uno de los parámetros involucrados en el juego, tiene diferente vulnerabilidad tanto a la lesión unilateral del BO, como al exceso de estimulación sensorial. En este sentido, los hallazgos del estudio sugieren que el

circuito que participa en el boxeo y en la lucha es menos sensible a las influencias ambientales que el del encimamiento (Figs. 14, 15 y 16).

Por otra parte, los sujetos termocauterizados de un poro nasal jugaron significativamente más que los controles con termocauterización paranasal en ambas etapas prepuberal y postpuberal. Con respecto al sexo los machos jugaron significativamente más que las hembras en el período prepuberal, el juego fue significativamente mayor entre parejas en ambos períodos prepuberal y postpuberal, y también se obtuvo que el juego fue más frecuente durante el período prepuberal comparado con el postpuberal (Fig. 17). Estos hallazgos de aumentos significativos moderados en el juego asociados con la maniobra de termocauterización de un poro nasal, concurren con una marcada tendencia a incrementarse esta actividad en los valores de prácticamente todas las mediciones de los parámetros del juego que aquí se consideraron (Fig. 14, 15 y 16).

Los hallazgos obtenidos del Experimento 1, en general son congruentes con la hipótesis planteada en el estudio de que el impedimento en el ingreso de las señales olfatorias, obtenido mediante diversos procedimientos como la bulbectomía, la lesión del BO o de la región septal hipotalámica, son capaces de incrementar significativamente el juego y su motivación (Beatty y col., 1982; Beatty y Costello, 1983). Aunque los hallazgos aquí obtenidos, no son totalmente consistentes con un incremento significativo en todos los días del registro de los componentes de la conducta de juego, sin embargo, esto puede tener su explicación en que en este estudio no se afectaron directamente elementos de la vía olfatoria. Asimismo, cuando se consideran las enormes propiedades de plasticidad que se dan a nivel de la vía olfatoria de los roedores. Al respecto puede mencionarse que la rata recién nacida que tiene un pobre desarrollo olfatorio, acompañado de una mínima capacidad visual y auditiva, sin embargo, es capaz de discriminar el olor materno y el del nido del olor proveniente de algún otro material extraño como el ácido acético (Salas y col., 1969, 1970; Schapiro y Salas, 1970). Esta pobre capacidad en la discriminación, se enriquece

conforme madura el sistema olfatorio y los demás sistemas sensoriales, ampliándose así las interacciones y la adaptación del individuo a las demandas del mundo exterior. Dan apoyo también a esta gran capacidad plástica, el que el BO es una de las pocas estructuras que mantiene una neurogénesis tardía, que es susceptible de reorganizarse por la sobreestimulación con agentes volátiles olorosos (Altman y col., 1969; Panhuber y Laing, 1987). Un efecto similar puede observarse en el caso de la vía auditiva, en la cual la rata recién nacida a pesar de no tener aún desarrollada la oreja y canalizados sus conductos auditivos externos, y maduros el oído medio y el órgano de Corti, es capaz de detectar señales de ultrasonido producidas por la madre que se transmiten como vibración, y que se propagan a través de conducción ósea activando a las células pilosas internas del órgano de Corti de la cría inmadura (Carlier y Pujol, 1978; Rubel, 1984; Torrero y col., 1999).

Otro aspecto interesante relacionado con la plasticidad del substrato neuronal involucrado en la conducta de juego, concierne a la gran sensibilidad del cerebro de los animales recién nacidos a la información proveniente de otros sistemas sensoriales, en lo que se ha denominado la interacción intersensorial (Gibson, 1969). Por ejemplo, se ha establecido que los potenciales eléctricos provocados por la estimulación luminosa en el área visual de la corteza cerebral, pueden registrarse casi simultáneamente en el área auditiva de la misma (Rebillar y col., 1977). También se ha observado hipertrófia del área auditiva de la neocorteza, cuando se restringe la estimulación somatosensorial, aunque la corteza somestésica no sea afectada por la privación visual, o que la privación de estímulos auditivos, repercute en el crecimiento dendrítico del área motora de la neocorteza (Ryugo y col., 1975; Torrero y col., 1999). Con fundamento en estas observaciones, sería posible que no obstante que la termocauterización realizada en el día 3 del nacimiento que limitó unilateralmente el ingreso olfatorio y provocó atrofia del BO, pudiera incrementar la entrada contralateral de la vía olfatoria compensando así las deficiencias en las señales olfatorias. Es posible que este exceso unilateral en la estimulación olfatoria, haya amortiguado el incremento en la conducta de juego y su

motivación que se han descrito en ratas tempranamente bulbectomizadas (Beatty y Costello, 1983).

Por otra parte el incremento moderado que se obtuvo en los componentes del juego de los animales recién nacidos termocauterizados, y la baja del peso corporal y el retardo en la apertura de los oídos y de los ojos, no mostraron diferencias importantes asociadas al sexo. En este sentido los hallazgos aquí obtenidos en ratas termocauterizadas tempranamente de un poro nasal, no parecen definir importantes diferencias de sexo o de condición nutricional en el juego, que se han descrito usando otros paradigmas experimentales como la administración neonatal de andrógenos, la castración y la desnutrición neonatal severa (Poole y Fish, 1976; Olioff y Steward, 1978; Loranca y col., 1999). Sin embargo, los hallazgos aquí descritos de un incremento moderado en el desarrollo de la conducta de juego, son relevantes porque ponen de manifiesto que el reducir el ingreso de estímulos olfatorios durante el período perinatal, puede alterar la organización y el establecimiento de la conducta social de juego, así como se ha descrito para otras conductas, que son alteradas cuando a los sujetos se les provoca anosmia total, como por ejemplo para el caso de la conducta sexual (Larsson, 1971; McClelland y Cowley, 1972), maternal (Fleming y Rosenblatt, 1974; Ferreira y col., 1987; Kolunie y Stern, 1995) y de ingesta de alimento (Hill y Almlí, 1981). Las repercusiones de la conducta de juego y otras influencias perinatales sobre el desarrollo de la conducta social en el estado adulto y sus efectos en el desarrollo de la progenie, en el presente son motivo de estudio en nuestro laboratorio.

Los hallazgos de la sección 1 comparando los efectos sobre los componentes del juego en los animales del grupo control sin termocauterización (CONTROL), con respecto a los animales del grupo control con termocauterización paranasal, que fueron lesionados en el área paranasal (CTP), estos últimos mostraron una reducción significativa de la frecuencia de los componentes del juego en algunos de los días en que éste se presenta con mayor frecuencia (Figs. 34, 35 y 36) es decir que la pura



manipulación experimental (en este caso la termocauterización) provocó cambios significativos en el juego. Posiblemente, estos cambios podrían relacionarse con el hecho de que la madre además de la estimulación sensorial que regularmente le impone a sus crías, dirigiría estimulación tipo lamido al área de la nariz de la cría en donde se hizo la termocauterización y en sus zonas aledañas. Este exceso de estimulación sensorial posiblemente reduciría la respuesta al estrés del recién nacido produciendo una reducción en los diversos componentes de la respuesta al estrés con una disminución en el juego (Levine y col., 1967). Esta posibilidad encuentra apoyo en estudios previos en los que se ha establecido que la manipulación sensorial temprana del tipo del manoseo aplicado en forma repetitiva a los recién nacidos, o la estimulación somatosensorial que la madre le da a sus crías, reduce gradualmente la repuesta al estrés, la actividad de movimiento y promueve la maduración sexual (Bernstein, 1952; Weininger, 1956; Broutte-Lahlou y col., 1991). De esta manera se ha comprobado que tanto la liberación de la hormona adrenocorticotropa hipofisaria, los niveles circulantes de los corticoides suprarrenales, así como de la adrenalina y la noradrenalina, se reducen gradualmente haciendo menos sensibles a los sujetos a la aplicación de estímulos estresantes del tipo de la exposición a un ambiente novedoso, o de la propia actividad de juego (Levine y col., 1967; Levine y Mullins, 1968).

Con relación a los efectos provocados por la exposición diaria (10 min) predestete de las crías a un ambiente saturado con acetato de amilo (Experimento 2) sobre el desarrollo de la conducta de juego, éstos fueron aún menores comparados con los descritos para el Experimento 1. En el caso de las hembras la frecuencia de la lucha y el encimamiento se redujeron significativamente en algunos de los días del registro. Aunque en los machos no se encontraron diferencias en los componentes del juego asociadas a la estimulación olfatoria en exceso, sin embargo, hubo una clara tendencia a incrementarse el juego en los animales estimulados, tanto en el juego de pareja como en el de conjunto (Figs. 25, 26 y 27). Estos hallazgos sugieren la posibilidad de un efecto diferencial en la expresión del juego, dependiente del sexo y asociado a la maniobra de estimulación olfatoria temprana. Esta sugerencia encuentra apoyo en la

evidencia experimental previa de que las ratas hembra, exploran más empleando señales olfatorias en un ambiente novedoso que los machos. A la vez que los machos muestran mayores niveles de aseo a los genitales que las hembras (Olioff y Stewart, 1978; Moore y Chadwick-Dias, 1986). Esta respuesta diferencial ligada al sexo parece estar también relacionada con una menor responsividad de las hembras con respecto a los machos al estrés medioambiental (Beatty, 1979). Por otra parte las hembras lactantes adultas en comparación con los machos, tienen más desarrollada su capacidad para detectar el olor de las feromonas prepuciales secretadas por las crías machos recién nacidas, que desencadenan un aumentado lamido anogenital, el cual se ha involucrado en la maduración gonadal (Moore y Morelli, 1979; Moore y Rogers, 1984; Moore y Chadwick-Dias, 1986).

Con fundamento en esta evidencia experimental, en nuestros resultados sería posible que las reducciones significativas en los componentes del juego de las crías hembras, estuvieran asociadas al exceso de información olfatoria predestete. En efecto en este caso, los recién nacidos no sólo recibieron este tipo de estimulación en exceso, sino también la estimulación materna normal, más la estimulación de lamido y manipulación maternal como resultado del exceso de olor al acetato de amilo que se impregnó al pelo de los animales así estimulados. En este caso es factible que todo este exceso de estimulación sensorial general que recibió el recién nacido, pudo desencadenar una menor responsividad al estrés de cualquier tipo, incluyendo al propio juego considerado como un estímulo estresante, lo cual generó su disminución en los sujetos estimulados tempranamente.

La disminución de la frecuencia del juego en los sujetos EEOL con respecto a los del grupo CsEOL también es posible que se correlacionara con un cambio en la organización citoarquitectónica y funcional de las neuronas en los primeros relevos de la vía olfatoria. En este sentido los hallazgos del Experimento 1, indican que la obstrucción unilateral en el ingreso olfatorio, resultó en una atrofia y reducción en el peso del BO ipsilateral como lo mostraron nuestros resultados. Asimismo, que en el

caso de los efectos del exceso de estimulación olfatoria predestete, hubo un incremento gradual en el tamaño y el peso de los BO (Fig. 31), que se acompañó de un incremento en la apertura de los oídos y los párpados (Fig. 24). Esta aceleración en la maduración de los canales sensoriales acústico y visual, se correlacionó con un incremento en el peso corporal en ambos sexos siendo más constante en el caso de los machos (Fig. 23).

Numerosos estudios sobre la ontogenia conductual han mostrado que el desarrollo, la organización y la eficiencia en la expresión de la conducta, corren paralelos al surgimiento y operatividad de los canales sensoriales (Salas y Schapiro, 1970; Kehoe y Blass, 1985). Para el caso de la conducta social de juego, es posible que la vía somatosensorial sea una de las que más tempranamente puede influir sobre el desarrollo de los mecanismos neuromusculares que se emplean durante el juego. En este sentido, la estimulación física indirecta que recibe el feto dentro del útero materno, proveniente de la actividad músculo esquelética, y de los movimientos respiratorios y gastrointestinales de la madre, puede ser una señal que regula la generación y el establecimiento de los ritmos de actividad prenatales, que son posiblemente integrados en los núcleos reticulares del tallo cerebral y sus conexiones con la médula espinal (Scheibel y col., 1973; Hammer y col., 1981; Salas y col., 1996). La generación de movimientos corporales durante el desarrollo del feto, pudiera por si sólo ser una fuente importante para la maduración del substrato neural que participará en múltiples actividades de movimiento incluyendo el juego. Por otra parte en los primeros minutos que siguen al parto y al establecerse el ritmo respiratorio, el recién nacido inaugurará la vía olfatoria, a través de la cual los receptores y los complejos neuronales a lo largo de sus distintos relevos sinápticos, estarán sometidos a una vertiginosa descarga de impulsos nerviosos que servirá de base para el establecimiento del fenómeno de la impronta, tan esencial para la supervivencia en el mundo exterior (Lorenz, 1935; Schapiro y Salas, 1970). Así este canal tan importante en los roedores, servirá de base para el reconocimiento materno y del nido y del ambiente circundante incluyendo a los congéneres. La experiencia olfatoria temprana es también capital para la ingesta de

líquidos, nutrimentos y factores de crecimiento provenientes de la leche materna (Epstein, 1986; Westneat y Hall, 1992). Los hallazgos del presente estudio son relevantes al mostrar por vez primera según nuestro conocimiento, que es posible incrementar o bien disminuir significativamente la expresión del juego al manipular tempranamente este canal sensorial.

Por otra parte, después de las primeras 3 semanas de edad de la rata la vía auditiva madura y se incrementa la respuesta de los receptores a un número mayor de bandas de frecuencia e intensidad del sonido (Pujol y col., 1978; Cartier y Pujol., 1978; Salas y col., 1994). Asimismo, que en la vía visual maduran las respuestas eléctricas provocadas por la aplicación de estímulos visuales y se desarrolla la percepción de profundidad (Callison y Spencer, 1968; Cintra y Salas, 1977), entonces el recién nacido enriquece e incrementa la expresión del juego, siendo por lo tanto capaz de compensar cualquier deficiencia en los mecanismos neurohumorales involucrados en su expresión. Con fundamento en estos antecedentes sobre el desarrollo sensorial, es posible que el impacto provocado por la manipulación en el ingreso sensorial que aquí se empleó, fue capaz de compensar el deterioro en el desarrollo olfatorio y por lo tanto sus efectos sobre la expresión de la conducta de juego.

En el presente estudio cuando se compara el grupo control sin ninguna manipulación experimental (CONTROL) con el grupo con simulación de estimulación olfatoria (CsEOL), los hallazgos muestran que la frecuencia del juego en los últimos se incrementa significativamente en la lucha y en el encimamiento, entre los días en los que se presentan con mayor frecuencia dichos parámetros, o bien presentan una clara tendencia a incrementarse como también lo fue para el caso del boxeo (Figs. 45, 46 y 47). Analizando este efecto los sujetos del grupo con simulación olfatoria, tuvieron tanto la manipulación asociada a la exposición a la cámara de inhalación, como la estimulación sensorial rutinaria que la madre le da a sus crías. Es posible que este último tipo de estimulación sensorial no haya alcanzado el nivel necesario para reducir el juego, sino más bien resulte en un incremento de éste como consecuencia de una

mayor propensión al estrés conductual por parte de los sujetos de este grupo experimental en particular. Nuestros hallazgos una vez más sugieren que el exceso de estimulación sensorial temprana produce cambios endocrinológicos y conductuales, que en este caso posiblemente se presentaron como consecuencia de un cuidado diferente proveniente de la madre a las crías recién nacidas, a consecuencia de las manipulaciones experimentales realizadas.

Aunque la mayoría de las pautas conductuales que conforman el repertorio de muchos mamíferos, van acompañadas por un estado motivacional que induce al organismo a su ejecución, sin embargo, no es posible en todos los casos el poner en evidencia este componente de la conducta. La evidencia experimental previa muestra que varias conductas como la sexual, la ingesta de líquido y de alimento y el juego, van claramente acompañadas de un estado motivacional que en alguna forma ha sido susceptible de medirse (Epstein, 1986; Beatty y Costello, 1983). En el caso de la conducta de juego, se sabe que ésta tiene un fuerte contenido motivacional, en el que el neurotransmisor dopamina parece ser muy importante en su mecanismo de generación. Así cuando se emplea el paradigma de "investigación por niveles", en el cual una rata cruza voluntariamente entre 2 compartimentos a través de un tunel durante 10 min, al final de los cuales puede jugar con un grupo de animales, se ha descrito que conforme transcurren los días de las pruebas, el número de cruces se incrementa, reflejando una creciente respuesta anticipatoria y por lo tanto elevada motivación (Siviy, 1998).

Durante la manifestación de este tipo de respuesta anticipatoria, es posible detectar un incremento significativo del contenido de dopamina en la corteza frontal, cuerpo estriado y núcleo accumbens, que puede reducirse por la administración de una pequeña dosis de haloperidol, un inhibidor de la dopamina que no parece afectar la expresión del juego (Pfaus y Phillips, 1991; Damsa y col., 1992; Siviy, 1998). Aunque el nivel motivacional de los animales empleados en el Experimento 1 y 2, no se midió de manera directa con una prueba experimental ad hoc, es posible suponer que su

motivación se vió modificada, ya que ésta va asociada a los cambios moderados de incremento (Experimento 1) o de disminución (Experimento 2) que se observaron en la expresión de la conducta de juego. Sin embargo, será necesario en estudios futuros evaluar con mayor precisión los niveles de la motivación que van asociados a la manipulación neonatal del canal olfatorio, y al aislamiento de 20 h al que se sometió a los animales previamente a la evaluación de la conducta de juego.

## CONCLUSIONES (EXPERIMENTO 1)

1. La privación parcial crónica del ingreso olfatorio, provocó un decremento significativo en el peso corporal en ratas hembras y machos y un retardo en la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados.
2. El juego fue significativamente mayor en los sujetos termocauterizados de un poro nasal con respecto a los controles con termocauterización paranasal. Esta diferencia se presentó en el boxeo en los machos, en la lucha en parejas de hembras y en el encimamiento en parejas y en conjunto en el caso de las hembras, y en conjunto en los machos.
3. La frecuencia de la lucha y el encimamiento fueron significativamente mayores en parejas que en grupos de animales.
4. La frecuencia del juego total en el período prepuberal y postpuberal fue significativamente diferente con respecto a la condición experimental, al sexo y al tipo de juego. Dichas diferencias fueron a favor de los sujetos termocauterizados en ambas etapas, de los machos en la etapa prepuberal y del juego en pareja en ambas etapas. En general, la frecuencia total del juego fue mayor durante la etapa prepuberal vs la postpuberal.
5. La expresión de la lucha y el encimamiento fue más alterada con respecto al boxeo, lo cual sugiere efectos diferenciales y jerarquías en la sensibilidad de los substratos neurales correspondientes a la termocauterización unilateral de los poros nasales.

6. La cauterización de un poro nasal provocó cambios estadísticamente significativos para la frecuencia de los contactos en los flancos, pelvis y dorso en hembras y machos. Los contactos en los flancos y en el dorso fueron más frecuentes en los sujetos experimentales con termocauterización de un poro nasal con respecto a sus controles con termocauterización paranasal, y menos frecuentes en la pelvis.
7. La capacidad de olfacción de los machos de 30 días de edad con un poro nasal ocluido se alteró, ya que éstos tardaron más tiempo en encontrar la recompensa de alimento.
8. El largo, ancho y el peso húmedo de los BO del lado termocauterizado de ratas de 30 días de edad, disminuyeron significativamente con respecto a los BO contralaterales de las hembras; en los machos esta diferencia sólo se obtuvo en el ancho de los BO. En el mismo sentido se obtuvieron las diferencias significativas para los sujetos de 70 días de edad, en el ancho y el peso húmedo de los BO de las hembras y en el ancho de los BO de los machos.
9. Los BO de las ratas con termocauterización de un poro nasal vs los de sujetos controles con termocauterización paranasal, también fueron significativamente más pequeños. Las diferencias se presentaron en el largo, ancho y peso húmedo de hembras y machos de 30 y 70 días de edad.

## **CONCLUSIONES (EXPERIMENTO 2)**

1. El desarrollo físico de los sujetos estimulados con acetato de amilo, se alteró sobre todo el peso corporal de los machos. Esta manipulación provocó un incremento moderado en el peso corporal y un adelanto en la apertura de párpados y oídos.



2. La frecuencia de la lucha y el encimamiento en parejas de animales, disminuyó significativamente en algunos de los días del registro sólo en las hembras estimuladas olfatoriamente con respecto a sus controles con simulación de estimulación olfatoria.
3. La frecuencia de los parámetros del juego total fue mayor en parejas de sujetos que en conjunto en hembras y machos.
4. La conducta de juego durante los períodos prepuberal y postpuberal fue más frecuente en parejas vs en conjunto, y en general dicha conducta fue mayor durante el período prepuberal.
5. La expresión de la lucha y el encimamiento solamente se modificó significativamente, lo cual sugiere un efecto diferencial al substrato neuronal correspondiente con respecto a la exposición al acetato de amilo.
6. El exceso de estimulación olfatoria provocó diferencias significativas en el día 25 de edad para los contactos en la pelvis en los machos, y en el dorso en los sujetos de ambos sexos. En este caso en los sujetos experimentales se redujo la frecuencia de los contactos con respecto a los controles con simulación de estimulación olfatoria.
7. La capacidad de olfacción en las hembras de 30 y 70 días de edad, se redujo significativamente como resultado del exceso de estimulación olfatoria durante el período predestete.
8. El largo y el peso húmedo de los bulbos olfatorios fueron significativamente mayores en los sujetos experimentales de 30 días de edad de ambos sexos, y en el largo de los BO de las hembras y peso húmedo de los machos de 70 días de edad.

## CONCLUSIONES GENERALES

1. La manipulación experimental del ingreso olfatorio durante la etapa crítica del desarrollo cerebral en la rata, interfiere indirectamente con la maduración del sistema nervioso y directamente con el crecimiento físico.
2. Las alteraciones producidas en la expresión de los parámetros de la conducta de juego, por la reducción o el exceso de estimulación olfatoria, repercuten en el desarrollo del substrato neural que participa en la modulación sensorial.
3. El sistema olfatorio de las hembras es vulnerable a las manipulaciones experimentales aquí realizadas para la estructuración de la conducta social temprana, a juzgar por las modificaciones en el desarrollo de los parámetros de la conducta de juego.
4. Los hallazgos sugieren la posibilidad de que los substratos neuronales involucrados en la expresión de los distintos componentes de la conducta de juego, tengan una sensibilidad diferencial a las manipulaciones experimentales en el ingreso de las señales sensoriales en el canal olfatorio. Esto último sería sugestivo de la presencia de jerarquías en la expresión de los componentes del juego.
5. La capacidad de olfacción de las ratas se modifica como resultado de la experiencia olfatoria temprana.
6. El trastorno generado por la manipulación olfatoria temprana, es parcialmente compensado por las propiedades plásticas del tejido cerebral en desarrollo. De esta manera los hallazgos sugieren que los fenómenos plásticos que acompañan a la ontogenia neural, contribuyen a definir las características de la conducta social.

## REFERENCIAS

- Aldis, O. (1975): Play fighting. New York: Academic Press.
- Altman, J., Anderson, W.J. y Wright, K.A. (1969): Early effects of x-irradiation of the cerebellum in infant rats: Decimation and reconstitution of the external granular layer, **Exp. Neurol.**, **24**: 196-216.
- Anand, B.K. y Brobeck, J.R. (1951): Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, **77**: 323-324.
- 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.
- Barnett, S.A. y Burn, J. (1967): Early stimulation and maternal behaviour. **Nature**, **213**: 150-152.
- Beatty, W.W. (1979): Gonadal hormones and sex differences in nonreproductive behaviors in rodents: Organizational and activational influences. **Horm. Behav.**, **12**: 112-163.
- 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.
- Bekoff, M. y Byers, J.A. (1981): A critical reanalysis of the ontogeny and phylogeny of mammalian social and locomotor play: An ethological hornet's nest. En: Immelmann, K., Barlow, G.W., Petrinovich, L. y Main, M. (Eds.) **Behavioral Development. The bielefeld interdisciplinary project. Cambridge University Press.** Cambridge. pp. 296-337.
- Bennett, E.L., Diamond, M.C., Krech, D. y Rosenzweig, M. (1964): Chemical and anatomical plasticity of brain. **Science**, **146**: 610-619.
- Bennett, A.F. (1982): The energetics of reptilian activity. En: Gans C. y Pough, F.H. (Eds.) **Biology of the reptilia. Academic Press.** London. Vol. 13, pp. 155-199.
- Berbel, P., Guadaño-Ferraz, A., Angulo, A. y Cerezo, J.D. (1994): Role of thyroid hormones in the maturation of interhemispheric connections in rats. **Behav. Brain Res.**, **64**: 9-14.

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

Bondy, A.B. y Wei-Hua, L. (1993): Patterns of insuline-like growth factor and IGF receptor gene expression in the brain. En: Raizada, M.K. y Le Roith, D. (Eds.). **The role of insulin-like growth factors in the nervous system. Ann. N.Y. Acad. Sci. V. 692**: 33-43.

Brouette-Lahlou, I., Vernet-Maury, E. y Chanel, J. (1991): Is rat-dam licking behavior regulated by pup's preputial gland secretion? **Anim. Learn. Behav.**, **19**: 177-184.

Burghardt, G.M. (1988): Precocity, play, and the ectotherm-endotherm transition. (Ed.) **Developmental psychobiology and behavioral ecology. Vol. 9 Handbook of behavioral. Plenum Press. New York**, pp.107-148.

Burghardt, G.M. (1998): The evolutionary origins of play revisited: Lessons from turtles. En: Bekoff, M. y Byers, J.A. (Eds.) **Evolutionary, comparative and ecological perspectives. Cambridge University Press**. pp. 1-26.

Callison, D. y Spencer, J. (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. (1978): Role of inner and outer hair cells in coding sound intensity: an ontogenetic approach. **Brain Res.**, **147**: 174-176.

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 Salas, M. (1977): Efectos de la experiencia visual sobre el desarrollo de la discriminación de profundidad en la rata. XII Congreso Latinoamericano de Ciencias Fisiológicas. México, D.F.

Cooper, A.J. y Cowley, J.J. (1976): Mother-Infant interaction in mice bulbectomized early in life. **Brain Res.**, **16**: 453-459.

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

Damsa, G., Pfaus, J.G., Wenkstern, D., Phillips, A.G. y Fibiger, H.C. (1992): Sexual behavior increases dopamine transmission in the nucleus accumbens and striatum of male rats: Comparison with novelty and locomotion. **Behav. Neurosci.**, **106**: 181-191.

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

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

Edwards, D.A. y Davis, A.B. (1997): Deafferentation of the olfactory bulbs of male rats reduces erection to remote cues from females. **Physiol. Behav.**, **62**:145-149.

Epstein, A.N. (1986): The ontogeny of ingestive behavior: Control of milk intake by suckling rats and the emergence of feeding and drinking at weaning. En: Riter, R., Riter, S. y Barnes, C.D. (Eds.). **Neural and Humoral Controls of Food Intake**. San Diego, Cal., Academic Press. pp 1-25.

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. (1995): Dendritic branching of claustral neurons in neonatally undernourished rats. **Biol. Neonate**, **68**: 47-54.

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

Ferreira, A., Dahlof, L-G., Hansen, S. (1987): Olfactory mechanisms in the control of maternal aggression, appetite, and fearfulness: Effects of lesions to olfactory receptors, mediodorsal thalamic nucleus, and insular prefrontal cortex. **Behav. Neurosci.**, **101**: 709-717.

Fleming, A.S. y Rosenblatt, J.S. (1974): Olfactory regulation of maternal behavior in rats: I. Effects of olfactory bulb removal in experienced and inexperienced lactating and cycling females. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, **86**: 221-232.

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

Ganong, W.F. (1994): Regulación central de las funciones viscerales. En: **Fisiología Médica**. W.F. Ganong (Ed.), 14 edición.

Gibson, E.J. (1969): **Principles of perceptual learning and development**. Inglewood Cliffs, N.J. Prentice Hall.

Gross, E.A., Swenberg, J.A., Fields, S. y Popp, J.A. (1982): Comparative morphometry of the nasal cavity in rats and mice. **J. Anat.**, **135**: 83-88.

Guroff, G. (1993): Nerve growth factor as a neurotrophic agent. En: Raizada, M.K. y Le Roith, D. (Eds.). **The Role of Insulin-Like Growth Factors in the Nervous System. Ann. N.Y. Acad. Sci. V. 692: 51-59.**

Hammer, R.P. JR., Lindsay, R.D. y Scheibel, A.B. (1981): Development of the brain stem reticular core: an assessment of dendritic state and configuration in the perinatal rat. **Dev. Brain Res., 1: 179-190.**

Hamilton, L.W. (1976): Basic limbic system anatomy of the rat. **Plenum Press, New York**, pp. 87-94.

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

Hetherington, A.W. y Ranson, S.W. (1942): The spontaneous activity and food intake of rats with hypothalamic lesions. **Am. J. Physiol., 136: 609-617.**

Hill, D. Y Almli, C.R. (1981): Olfactory bulbectomy in infant rats: Survival, growth and ingestive behaviors. **Physiol. Behav., 27: 811-817.**

Hinds, J.W. (1968a): Autoradiographic study of histogenesis in the mouse olfactory bulb. I. Time of origin of neurons and neuroglia. **J. Comp. Neurol., 134: 287-303.**

Hinds, J.W. (1968b): Autoradiographic study of histogenesis in the mouse olfactory bulb. II. Cell proliferation and migration **J. Comp. Neurol., 134: 305-322.**

Hudson, R. y Distel, H. (1995): Procesamiento central de la información olfatoria. En: UNAM (Ed.). **Neurobiología de los Sistemas Sensoriales.** pp. 119-134.

Jeffrey, R.A. (1974): Producing and interpreting experimental olfactory deficits. **Physiol. Behav., 12: 657-670.**

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

Kolonie, J.M. y Stern, J.M. (1995): Maternal aggression in rats: Effects of olfactory bulbectomy, ZnSO<sub>4</sub>-induced anosmia, and vomeronasal organ removal. pp. 492-518.

Larsson, K. (1971): Impaired mating performances in male rats after anosmia induced peripherally or centrally. **Brain Behav. Evol. 4: 463-471.**

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

Levi-Montalcini, R. (1987): The nerve growth factor 35 years later. **Science, 237: 1154-1162.**

- Levine, S., Haltmeyer, G.C., Karas, G.C. y Denenberg, V.H. (1967): Physiological and behavioral effects on infantile stimulation. **Physiol. Behav.**, **2**: 55-59.
- 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.
- Loranca, A., Torrero, C., Regalado, M. y Salas, M. (1996): Desarrollo de la conducta de juego en ratas desnutridas durante el período neonatal. XXXIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Puebla, Pue., México. O113.
- Loranca, A. (1997): Desarrollo de la conducta de juego en ratas normales y desnutridas neonatalmente. Tesis de Maestría. Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado del CCH-UNAM.
- Loranca, A., Torrero, C. y Salas, M. (1999): Development of play behavior in neonatally undernourished rats. **Physiol. Behav.**, **66**: 3-10.
- Lorenz, K. (1935): Der Kumpan in der umwel des vogels. **J. Ornithol.**, **83**: 137-213.
- Lorenzana, J.M. y Salas, M. (1990): Behavioral effects of chronic toluene exposure in the developing rat. **Neurobehav. Neurotoxicol. Teratol.**, **12**: 353-357.
- Lucio, R.A., García, J.V., Cerezo, J.R., Pacheco, P., Innocenti, G.M. y Berbel, P. (1997): The development of auditory callosal connections in normal and hypothyroid rats. **Cerebral Cortex**, **7**: 303-316.
- Martin, P. y Caro, T.M. (1985): On the functions of play and its role in behavioral development. **Adv. Study Behav.**, **15**: 59-103.
- 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.
- McClelland, R.J. y Cowley, J.J. (1972): The effects of lesions of the olfactory bulbs on the growth and behaviour of mice. **Physiol. Behav.**, **9**: 319-324.
- Meaney, M.J. y Stewart, J. (1981): A descriptive study of social development in the rat (*Rattus norvegicus*). **Anim. Behav.**, **29**: 34-45.
- Meisami, E. (1976): Effects of olfactory deprivation on postnatal growth of the rat olfactory bulb utilizing a new method for production of neonatal unilateral anosmia. **Brain Res.**, **107**: 437-444.

- Melniczer, J.R. y Ward, I.L. (1994): Patterns of ano-genital licking mother rats exhibit toward prenatally stressed neonates. **Physiol. Behav.**, **56**: 457-461.
- Melzack, R. y Burns, S.K. (1964): Neurophysiological effects of early sensory restriction. En: Escobar, A. (Ed.) **Feedback Systems Controlling Nervous Activity**. SMCF. México.
- Moore, C.L. y Morelli, G.A. (1979): Mother rats interact differently with male and female offspring. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, **93**: 677-684.
- Moore, C.L. y Rogers, S.A. (1984): Contribution of self-grooming to onset the puberty in male rats. **Dev. Psychobiol.**, **17**: 243-253.
- Moore, C.L. y Chadwick-Dias, A.-M. (1986): Preputial glands of infant rats (*Rattus norvegicus*) provide chemosignals for maternal discrimination of sex. **J. Comp. Psychobiol.**, **100**: 76-80.
- Mora-Novaro, O.A. y Sánchez-Criado, J.E. (1992): Fisiología del olfato. En: Tresguerres, J.A.F. (Ed.) **Fisiología Humana. McGraw-Hill Interamericana de España**. Madrid. pp. 328-340.
- Morgane, P.J., Austin-La France, R., Bronzino, J., Tonkiss, J. y Galler, J. (1992): Malnutrition and the developing nervous system. En: Isaacson, R. y 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. A. (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.
- Olioff, M. y Stewart, J. (1978): Sex differences in the play behavior of prepubescent rats. **Physiol. Behav.**, **20**: 113-115.
- Panksepp, J. y Beatty, W.W. (1980): Social deprivation and play in rats. **Behav. Neur. Biol.**, **30**: 197-206.
- Panhuber, H. y Laing, D.G. (1987): The size mitral cells is altered when rats are exposed to an odor from their day of birth. **Dev. Brain Res.**, **34**: 133-140.



- 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.
- Pascual, R., Hervias, M.C. y Figueroa, H.R. (1996): Effects of preweaning environmental stimulation on neural and behavioral impairment produced by undernutrition. **Biol. Neonate**, **70**: 165-172.
- 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.
- Pfaus, J.G. y Phillips, A.G. (1991): Role of dopamine in anticipatory and consummatory aspects of sexual behavior in the male rat. **Behav. Neurosci.**, **105**: 727-743.
- 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.
- Pujol, R., Carlier, E. y Devigne, C. (1978): Different patterns of cochlear innervation during the development of the kitten. **J. Comp. Neurol.**, **177**: 529-536.
- Rebillard, G., Cartier, E., Rebillard, M. y Pujol, R. (1977): Enhancement of visual responses in the auditory cortex of the cat after early destruction of cochlear receptors. **Brain Res.**, **129**: 162-164.
- Recio-Pinto, E., Rechler, M.M. e Ishii, D.N. (1986): Effects of insulin-like growth factor-II and nerve growth factor on neurite formation and survival in cultured sympathetic and sensory neurons. **J. Neurosci.**, **6**: 1211-1219.
- Regalado, M. (1997): Alteraciones de la conducta maternal en ratas neonatalmente desnutridas: Efectos de la experiencia de partos sucesivos. Tesis de Maestría. Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado del CCH-UNAM.
- Regalado, M., Torrero, C. y Salas, M. (1999): Maternal responsiveness of neonatally undernourished and sensory stimulated rats: Rehabilitation of maternal behavior. **Nutr. Neurosci.**, **2**: 7-18.
- Rosenblatt, J., Mayer, A.D. y Giordano, A.L. (1988): Hormonal basis during pregnancy for the onset of maternal behavior in the rat. **Psychoneuroendocrinol.**, **13**: 29-46.

- 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.
- Rubel, E.W. (1984): Ontogeny of auditory system function. **Ann. Rev. Physiol.**, **46**: 213-219.
- Ruiz-Marcos, A., Sala, J. y Alvarez, R. (1979): Effect of specific and nonspecific stimuli on the visual and motor cortex of the rat. **Brain Res.**, **170**: 61-69.
- Ryugo, D.K., Ryugo, R., Globus, A. y Killackey, H.P. (1975): Increased spike density in auditory cortex following visual or somatic differentiation. **Brain Res.**, **90**:143-146.
- 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.**, **5**: 1261-1264.
- 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. 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., 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., Regalado, M., Martínez-Gómez, M. y Pacheco, P. (1994). Dendritic arbor alterations in the medial superior olivary neurons of neonatally underfed rats. **Acta Anat. (Basel)**. **151**: 180-187.
- Salas, M., Calixto, B., Torrero, C., Regalado, M. y Loranca, A. (1996): Growth of the anogenital area of neonatally underfed and tactile stimulated female rats. **Bol. Estud. Méd. Biol. Méx.**, **44**: 64-65.
- Schapiro, S. y Salas, M. (1970): Behavioral response of infant rats to maternal odor. **Physiol. Behav.**, **5**: 815-817.
- Schapiro, S. y Vukovich, K. (1970): Early experience effects upon cortical dendrites: A proposed model for development. **Science**, **167**: 292-294.

Scheibel, M.E., Davies, T.L. y Scheibel, A.B. (1973): Maturation of reticular dendrites: loss of spines and development of bundles. **Exp. Neurol.**, **38**: 301-310.

Shepherd, G.M. (1972): Synaptic organization of the mammalian olfactory bulb. **Physiol. Rev.**, **52**: 864-917.

Sirevaag, A.M. y Greenough W.T. (1988): A multivariate statistical summary of synaptic plasticity measures in rats exposed to complex, social and individual environments. **Brain Res.**, **441**: 386-392.

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

Siviy, M.S. (1998): Neurobiological substrates of play behavior glimpses into the structure and function of mammalian playfulness. En: M. Bekoff y J.A. Byers (Eds.) **Animal Play: Evolutionary, Comparative, and Ecological Perspectives**. Cambridge University Press. pp. 221-242.

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

Switzer, R.C., De Olmos, J. y Heimer, L. (1985): Olfactory system. En: Paxinos, G. (Ed.). **The Rat Nervous System**. Academic Press, Inc. Kensington, NSW, Australia. pp.1-30.

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

Tonkiss, J., Galler, J.R., Shukitt-Hale, B. y Rocco, F.J. (1990): Prenatal malnutrition impairs visual discrimination learning in adult rats. **Psychobiology**, **19**: 247-250.

Torrero, C., Regalado, M., Perez, E., Loranca, A. y Salas, M. (1999): Effects of neonatal undernutrition and binaural ear occlusion on neural development of the superior olivary complex of rats. **Biol. Neonate**, **75**: 259-271.

Torrero, C., Regalado, M. y Salas, M. (1999): Desnutrición y privación auditiva tempranas sobre el desarrollo dendrítico de neuronas piramidales de IV capa de la corteza motora de la rata. Memorias de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. C219. México.

Van den Berg, C.L., Hol, T., Van Ree, J.M., Spruijt, B.M., Everts, H. y Koolhaas, J.M. (1999): Play is indispensable for an adequate development of coping with social challenges in the rat. **Dev. Psychobiol.**, **34**: 129-138.

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.

Walker, C.D. y Aubert, T.L. (1988): Effects of early undernutrition and handling on the adrenocortical activity of neonatal rats. **Life Sci.**, **43**: 1983-1990.

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

Westneat, M.W. y Hall, W.G. (1992): Ontogeny of feeding motor patterns in infant rats: An electromyographic analysis of suckling and chewing. **Behav. Neurosci.**, **106**: 539-554.

ORIGINAL ARTICLES

# Development of Play Behavior in Neonatally Undernourished Rats

ANGELICA LORANCA, CARMEN TORRERO AND MANUEL SALAS<sup>1</sup>

*Department of Developmental Neurobiology, Centro de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla Querétaro, Qro. México, 76001, P.O. Box 1-1141, J.M. Arteaga 5, Mexico*

Received 30 June 1997; Accepted 6 August 1998

LORANCA A., C. TORRERO AND M. SALAS. *Development of play behavior in neonatally undernourished rats.* *PHYSIOL BEHAV* 66(1) 3-10, 1999.—The effects of neonatal food and sensory deprivation on play social behavior (boxing, wrestling, and pinning) were studied in male and female Wistar strain rats from 20 to 60 days of age. Data showed that the mean frequency of total play was markedly increased in neonatally underfed subjects. Play did also increase in the females and during the interaction in pairs and in the play that occurred during the prepubertal period. These findings suggest that early food restriction and the unavoidable sensory deprivation associated to the undernourishing procedure, interfere with the neuroendocrine maturational processes of central and peripheral modulatory mechanisms underlying play behavior. © 1999 Elsevier Science Inc.

Early undernutrition    Sensory deprivation    Play behavior    Rats

---

DURING brain ontogeny of rats, most playful behaviors such as fighting, dominating, and submitting (2,26), or the self-grooming response (34,38), follow the temporal course of an inverted U-shaped curve with a peak at 30-40 days of age. Several studies have shown that the development of play behavior is dependent on a number of influences such as maternal prenatal stress (46), gonadotropic hormonal levels perinatally (6,19), pretest environmental isolation or sensory manipulations (14,26,28,31), sexual differences (20,24,30,33,45), early weaning and reduced maternal care (23,42), and the dimensions of housing space during play activities (15). Moreover, play behavior is mediated by limbic (5,7), diencephalic (41), and brain stem neural mechanisms (41,44).

Previous evidence has shown that undernutrition throughout gestation and/or suckling leads to permanent structural and functional alterations of the central nervous system of the rat (21), and that sensorial systems are particularly sensitive to perinatal malnutrition as revealed by delayed ear and eye opening (38,39), alterations in the brain capacity to generate both spontaneous and provoked electrical activity in response to sensory cues (8,18,22,36) which correlate with severe den-

dritic arbor alterations in neurons of visual (10), auditory (39), and somatosensory cortical and subcortical structures (3,37). Neonatal undernutrition delays both the motor performance and the timing of emergence of function in sensory systems (8,18,22,35,38,39) and possible prediction is that social play has a delayed onset and later decline. Moreover, if neonatal undernutrition interferes with the development of corticosubcortical modulatory systems (38), then play behavior will be increased; meanwhile, these systems attain maturity. If undernutrition affects social play behavior by delaying or reducing pubertal hormones, then perhaps the onset is unaffected and the decline delayed.

In the following study, we examined the effects of neonatal undernutrition and impaired sensorial maturation in play behavior of Wistar strain rats. Play behavior was selected for examination because is a relatively complex early behavior that follows a consistent developmental pattern that is dependent of factors also interfered by perinatal undernutrition (i.e., sensory maturation, brain modulatory mechanisms, gender of subjects, play situation during the test, effects of body weight differences, plasma pubertal hormonal levels, stress situations, etc.).

<sup>1</sup>To whom requests for reprints should be addressed. E-mail: Masal@servidor.unam.mx

## METHODS

## Animals

This study was done with 32 nulliparous Wistar strain rats (*Rattus norvegicus*) bred at the Centro de Neurobiología, University of Mexico. Rats weighing 200–250 g were housed in acrylic cages (50 × 40 × 20 cm) for mating, in groups of six females with three males, with food (Purina chow) and water ad lib. Pregnant rats were removed from these groups and placed in individual maternity acrylic cages (50 × 40 × 20 cm) with grill tops, 2–3 days before the estimated date of parturition. The date of delivery was referred to as day 0 of postnatal life. Within 24 h after birth, male and female pups were randomly redistributed to the dams, so that each litter consisted of four male and four female pups. All rats were kept on a 12-h light:dark cycle (lights off at 2000 h) in a room maintained at 22 ± 2°C. A total of 128 animals reared in four groups and 32 males and 32 females in each experimental group were employed.

## Undernutrition

The underfed pups ( $n = 32$ ) of each sex came from 16 litters that were neonatally undernourished by daily removal from the nest along with the same half of the litter (four out of eight pups) to an incubator maintained at 28°C for 12 h (0800–2000 h) from postnatal days 1–23. Pups were returned to the dam for the remaining 12 h to allow them to suckle the nursing female. The other pups ( $n = 4$ ), which rested continuously with a dam, were employed to avoid the declining lactation and were not included in the experiment. Although underfed pups were smaller in size and thus easily identified by physical exploration, on postnatal day 1 they were marked for recognition with a dot of colored washable ink on the head to differentiate them from controls. The control group ( $n = 32$ ) came from 16 litters also formed by four male and four female pups each, which were left undisturbed with their mother in the nest throughout the preweaning period. The two experimental groups were weaned at 25 days of age, after which they were allowed free access to water and food (Purina chow). All subjects were checked when pertinent for ear and eye opening. In all cases, the same animals of each litter, recognized by ink mark on the tail, were weighed and tested together for play behavior in the prepubertal period at 20, 25, and 30 days

of age, around the age of puberty at 40 days of age, and during the postpubertal period at 50 and 60 days postnatally.

## Behavioral Device

The device used for behavioral assessment was a cylindrical plastic transparent arena (34 cm diameter × 40 cm height and 1 mm in thickness) through which animal behavior could be observed. To make the test arena "comfortable" the floor was covered with approximately 3 cm of wood shavings. The behavioral device and the recording equipment were placed in a sound-proof room separated from the ambient noise of the main laboratory. Lighting was provided by a 70-W red lamp located 50 cm above the floor of the device. The illumination was sufficient to produce reasonably clear recordings, but did not appear to disturb the animals. In all cases, the isolated room was maintained at 23 ± 2°C throughout the experiments. Food and water were not available for any subject from 30 min to 1 h before the trial and during the behavioral test. At the end of the play recording session, the animal was returned to its home cage. To minimize odors remaining from the previous trial, the device was cleaned with a wet rag. In addition, a fan was turned on to remove surrounding environmental odors.

## Procedure

Prior to test trials, subjects were housed singly in a room for 20 h in small hanging wire cages (29 × 17 × 12 cm) next to the recording chamber to heighten playful activity (26). Food and water were freely available. The temperature-controlled animal room where the rats were caged was illuminated from 0800 to 2000 h. During the behavioral test, four rats of the same age, sex, and treatment were placed in the same arena. The four subjects consisted of animals obtained from the same litter and occupying the same home cage. Each experimental group was randomly placed in the arena on each test per day. Test sessions were 10-min long, and occurred between 1600 and 2000 h (i.e., within the last 4 h of the light period). The play behavior of rats was recorded on a videotape by means of a closed television system located 100 cm away from the arena. Because underfed rats were smaller in size than controls, we were unable to blind the observer to the identity of rats for this part of the experiment. The videotape recordings were scored by a rater who was blind with respect to the age, sex, and treatment of the subjects.

TABLE 1  
BODY WEIGHT (±SEM) OF CONTROL AND NEONATALLY UNDERNOURISHED  
MALE AND FEMALE RATS DURING DEVELOPMENT

Age (Days)	Experimental Groups					
	Control		$p <$	Undernourished		$p <$
	Male ( $n = 32$ )	Male ( $n = 32$ )		Control	Undernourished	
			Female ( $n = 32$ )	Female ( $n = 32$ )		
5	12.71 ± 0.35	10.73 ± 0.25	0.0001	11.87 ± 0.26	10.12 ± 0.29	0.0001
10	20.14 ± 0.49	15.42 ± 0.40	0.0001	18.46 ± 0.43	14.92 ± 0.47	0.0001
15	26.87 ± 0.53	22.15 ± 0.40	0.0001	24.96 ± 0.48	22.51 ± 0.54	0.001
20	35.73 ± 1.03	26.96 ± 0.58	0.0001	32.98 ± 1.05	27.21 ± 0.61	0.0001
25	53.50 ± 1.59	38.46 ± 0.87	0.0001	48.34 ± 1.33	40.82 ± 1.13	0.0001
30	78.29 ± 3.19	60.53 ± 1.47	0.0001	68.17 ± 1.55	60.68 ± 1.61	0.001
40	133.68 ± 3.19	118.06 ± 3.11	0.002	119.78 ± 1.91	105.06 ± 2.19	0.0001
50	189.15 ± 4.66	174.65 ± 3.02	0.011	159.81 ± 2.49	143.71 ± 2.69	0.0001
60	236.65 ± 5.56	219.90 ± 2.81	0.009	188.84 ± 4.10	169.78 ± 2.70	0.0001

The play behavioral response was manually evaluated by direct observations of records at slow motion. The rater recorded the frequency of the following components: (a) boxing, two rats stand erect pawing at one another with their forepaws; (b) wrestling, rats roll and tumble about, and (c) pinning, one rat stands on top of another while the rat on the bottom struggles to escape. In all cases the behavioral components of play were measured when a pair (interaction in pairs) or a group of subjects (interaction in groups) were interacting during the test. Although other behavior such as biting, chasing, approaching, and mounting were observed, they did not occur frequently enough to be statistically evaluated. In all cases between the different components of play we also noted the number of contacts among subjects directed to the nape, dorsum, lateral abdominal, and pelvic areas.

*Statistical Analysis*

Experimental data were analyzed with the Systat Statistical Package version 2.1. To examine the score differences of the different play measurements among ages, sexes, and dietary treatments, the following separate statistical analyses were employed: 1) the body weight values were compared with a two-way ANOVA 2 (nutritional regimes)  $\times$  6 (ages); 2) the impact of neonatal undernutrition upon males or females on the different play components, nutritional regimes, ages, and types of interactions in play were compared with a multivariate analysis MANOVA 2 (nutritional regimes)  $\times$  2 (sexes)  $\times$  6 (ages)  $\times$  3 (play components)  $\times$  2 (types of interactions in play); 3) score differences between experimental groups for particular ages were calculated with post hoc

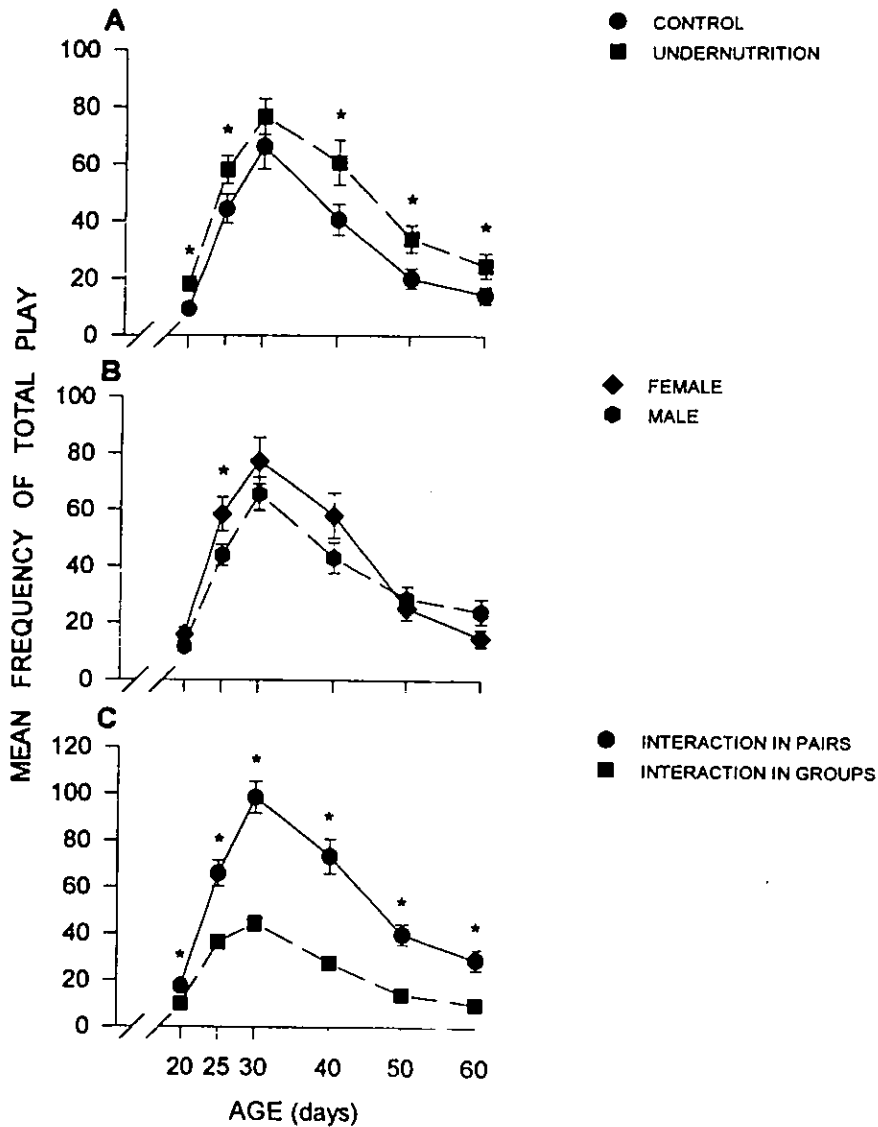


FIG. 1. Mean ( $\pm$ SEM) frequency of total play in control vs. undernourished subjects (A), female vs. male rats (B), and the interaction in pairs vs. the interaction in groups (C) during development. The total play is significantly increased ( $*p < 0.05$ ) in undernourished rats, in females and during the interaction in pairs.

Tukey tests; 4) the frequency of contacts directed to various body areas among experimental groups were compared with a MANOVA 2 (nutritional regimes)  $\times$  2 (sexes)  $\times$  6 (ages)  $\times$  4 (body areas)  $\times$  2 (types of subjects contacts); 5) ear and eye opening of experimental groups were compared with the Mann-Whitney *U*-test.

## RESULTS

Body weight comparisons among male and female subjects of both experimental groups at each developmental age showed significantly lower values ( $p < 0.05$ ) for neonatally underfed rats than controls (Table 1). Additionally, neonatally underfed and sensory deprived animals showed a consistent reduction in physical growth, as evidenced by a general 25–30% in body size reduction, and a 2-day delay in ear and eye opening to achieve adult characteristics (controls, day  $14 \pm 0.50$  and undernourished subjects, day  $16 \pm 0.10$ ; controls, day  $17 \pm 0.30$  and undernourished rats, day  $19 \pm 0.20$ , respectively).

### Frequency of Total Play

Analysis of the mean frequency scores of total play, defined as the mean values of the total boxing, wrestling, and pinning

behavior, showed a significant increase in neonatally underfed rats,  $F(1, 375) = 26.745$ ,  $p < 0.0001$  compared to controls and in females,  $F(1, 375) = 4.807$ ,  $p < 0.029$  compared to males. Moreover, in both statistical comparisons, no significant interactions between factors were observed. Post hoc analysis on each day of the study revealed significant differences ( $p < 0.05$ ) on days 20, 25, 40, 50, and 60 postnatally in underfed rats (Fig. 1A) and on day 25 postnatally ( $p < 0.05$ ) in female rats (Fig. 1B). Furthermore, data showed that the total play is also higher in the interaction in pairs vs. the interaction in groups of subjects,  $F(1, 375) = 149.165$ ,  $p < 0.0001$ . The maximum mean frequency scores in both types of interactions of play occurred around postnatal day 30, when they reach mean frequency values of 98 for the interaction in pairs, and 45 for the interaction in groups (Fig. 1C). Significant interactions between sex  $\times$  type of interactions of play,  $F(1, 376) = 5.089$ ,  $p < 0.02$ , and type of interactions of play  $\times$  age,  $F(1, 372) = 3.757$ ,  $p < 0.002$  factors were observed. Post hoc comparisons performed throughout the study indicated significant differences in all days analyzed. Analysis of the mean frequency scores of total play on each of the pre- and postpuberal periods showed a significant increase in neonatally underfed and sensory deprived rats,  $F(1, 123) = 19.573$ ,  $p < 0.0001$ , compared to controls (Fig. 2A) and the females,  $F(1,$

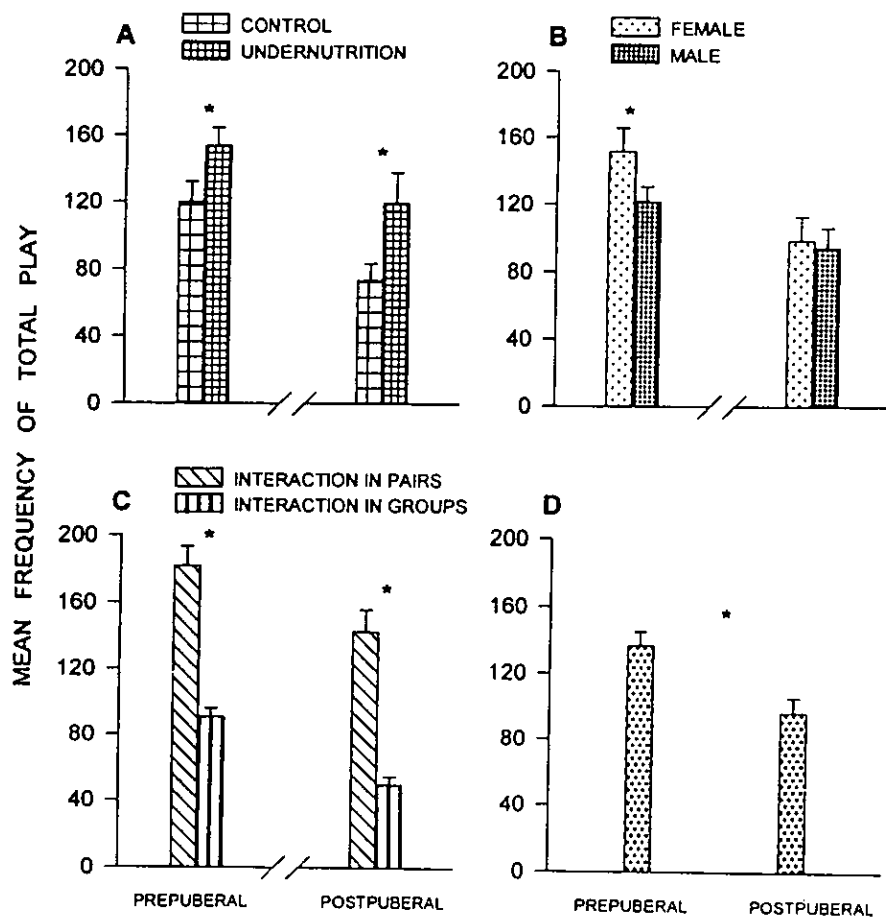


FIG. 2. Mean ( $\pm$ SEM) of total play in control vs. undernourished rats (A), female vs. male subjects (B), interaction in pairs vs. interaction in groups (C), and prepuberal and postpuberal play (D) throughout the experimental period.



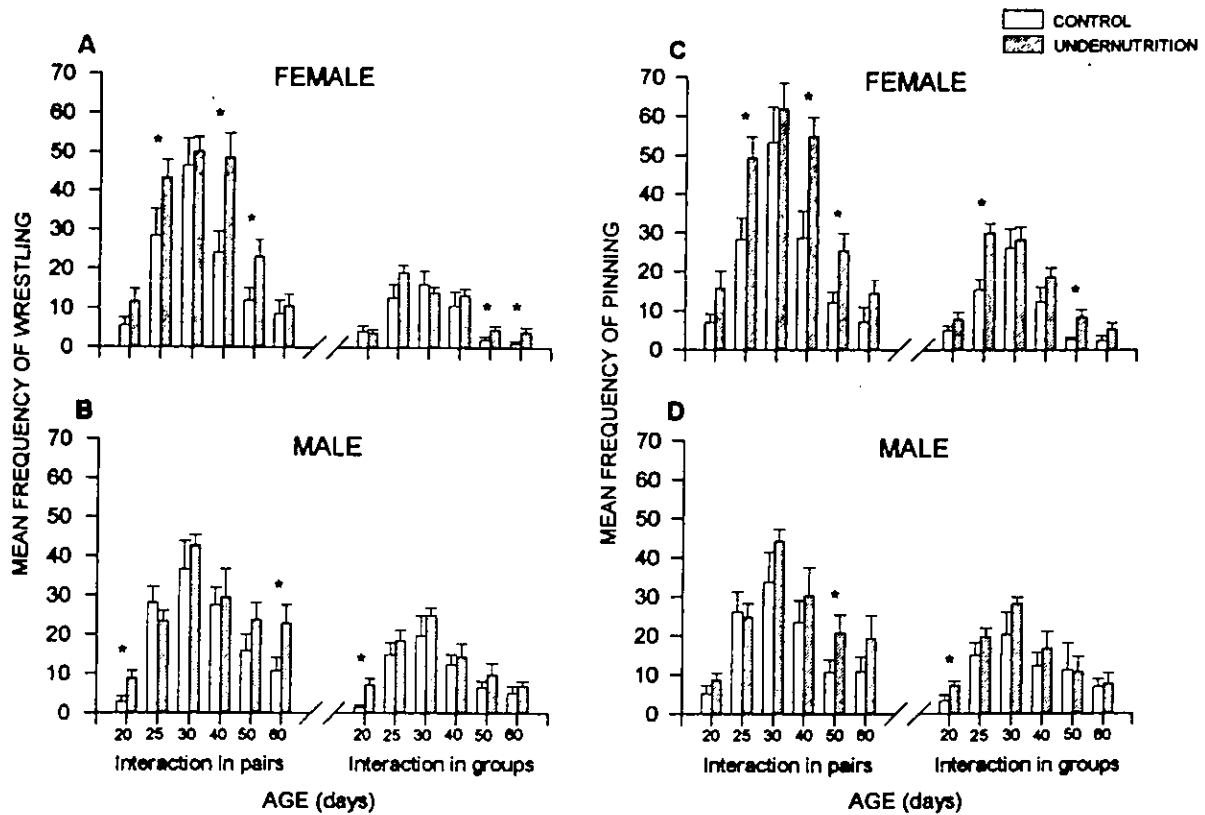


FIG. 3. Mean ( $\pm$ SEM) frequency of wrestling (A and B) and pinning (C and D) scores in control and undernourished female and male rats, in the interaction in pairs and the interaction in groups during development. In both measurements underfed females during the interaction in pairs are significantly increased (\* $p < 0.05$ ) compared with controls.

123) = 4.026,  $p < 0.047$  compared to males only in the prepuberal period (Fig. 2B). Concerning the type of interactions in play, data showed that interaction in pairs of animals is significantly higher,  $F(1, 123) = 106.827$ ,  $p < 0.0001$ , than was interaction in groups of subjects in each of the pre- and postpuberal periods (Fig. 2C). In general, play was more frequently observed during the prepuberal period (Fig. 2D).

*Frequency of Different Play Components*

Neonatally underfed rats, compared to their controls, did not show significant differences in boxing throughout the experimental period (not shown). However, more play in females than in males was observed,  $F(1, 375) = 9.453$ ,  $p < 0.002$ , the type of interactions in play,  $F(1, 375) = 180.64$ ,  $p < 0.0001$ , and age,  $F(5, 375) = 8.721$ ,  $p < 0.0001$ . Moreover, significant interactions between sex  $\times$  type of interactions in play,  $F(1, 381) = 12.419$ ,  $p < 0.0001$ , sex  $\times$  age,  $F(5, 377) = 2.539$ ,  $p < 0.028$ , and type of interactions in play  $\times$  age,  $F(5, 373) = 5.804$ ,  $p < 0.0001$ , factors were also observed.

The mean frequency of wrestling was increased in neonatally underfed rats,  $F(1, 375) = 21.708$ ,  $p < 0.0001$ . Moreover, it was also modified by the type of interactions in play,  $F(1, 375) = 155.091$ ,  $p < 0.0001$ , and age factor,  $F(5, 375) = 51.697$ ,  $p < 0.0001$ . Furthermore, significant interactions between sex  $\times$  type of interactions in play,  $F(1, 381) = 3.714$ ,  $p > 0.055$ , and type of interactions in play  $\times$  age,  $F(5, 375) = 3.869$ ,  $p < 0.002$  factors were obtained. Post hoc analysis per-

formed on each day of the study showed significant differences ( $p < 0.05$ ) on postnatal days 25, 40, and 50 for females for interactions in pairs, and on days 50 and 60 for interactions in groups. This was also observed, for males on days 20 and 60 postpartum for interactions in pairs of rats and on day 20 for interactions in groups of rats (Figs. 3A and 3B).

Statistical analysis of the mean frequency scores of pinning yielded an increment associated to neonatal undernutrition,  $F(1, 375) = 33.280$ ,  $p < 0.0001$ , sex,  $F(1, 375) = 0.015$ ,  $p < 0.001$ , types of interactions in play,  $F(1, 375) = 88.584$ ,  $p < 0.0001$ , and age factor,  $F(5, 375) = 52.940$ ,  $p < 0.0001$ . Moreover, significant interactions between sex  $\times$  types of interactions in play,  $F(1, 381) = 4.830$ ,  $p < 0.029$ , and types of interactions in play  $\times$  age,  $F(5, 373) = 2.687$ ,  $p < 0.021$ , factors were detected. Post hoc analysis at each day during the experimental period revealed that pinning behavior of neonatally underfed rats, increased significantly ( $p < 0.05$ ) on days 25, 40, and 50 postpartum for interactions in pairs of animals and on postnatal days 25 and 50 for interactions in groups for females; additionally, on postnatal day 50 for interactions in pairs of rats and on day 20 for males for interactions in groups of subjects ( $p < 0.05$ ) (Fig. 3C and D).

Concerning the effects of neonatal food and sensory deprivation upon the mean frequency scores of body contact occurring between play bouts, data indicate that contacts in the nape region were significantly increased in the control subjects ( $p < 0.003$ ). The contacts directed to the dorsum area were significantly increased in females ( $p < 0.0001$ ), and to all

body areas during interactions in pairs of subjects and with increasing age ( $p < 0.05$ ) (Table 2).

#### DISCUSSION

The underfeeding paradigm used for this study provoked an important delay in physical growth of rats, as evidenced by a body weight deficit that oscillated in a range of 20–30%. Although neonatal undernutrition endures until 23 days of age, however, significant body weight reductions were still present at 60 days old postnatally.

Present findings indicate that neonatal undernourishment and sensory deprivation of rats leads to increased mean frequency of total play behavior detectable before weaning when rats were returned to a nutritionally balanced diet. The significant increment of total play in undernourished rats at the younger ages may possibly reflect their higher brain excitability to increase both the sensorimotor electrical activity in response to sensory cues and the ability to perform different patterns of motor activity (18,35,36,38). This increase was essentially observed in wrestling and pinning play components with a lack of significant effects on boxing. The postweaning increments in play behavioral components obtained here are in line with previous studies showing that after weaning, neonatally underfed rats undergo a significant increment in the duration and frequency of various behavioral patterns such as self-grooming behavior (38), shorter stride times with reductions in stance time (9), clumsy locomotion, slightly unsteady gaits, and nonfluent paw movements (11), suggesting that neonatal undernutrition and the unavoidable interference of mother–infant interactions associated to the underfeeding procedure studied here may presumably be explained by the disturb in the sequential maturational processes of central and/or peripheral neural mechanisms modulating locomotor responses, including those related to play behavior. In this regard, it is known that perinatal undernourishment and sensory deprivation delays the temporal course of the habituation phenomenon elicited by acoustic repetitive stimuli (16), increases the afterdischarges of mitral neurons provoked by olfactory bulb electrical stimulation (18), and is also associated with dendritic arbor alterations of sensorial neurons of

specific and nonspecific thalamic and neocortical areas underlying modulatory actions upon subcortical structures (17,39).

Another possibility to explain the increased total play behavior in neonatally underfed and sensory-deprived rats concerns the effect of this influence as a powerful stressing agent. Thus, the increased levels of noradrenaline associated to neonatal undernutrition (43) may primarily promote the activation of adrenergic receptor of LHRH neurons that inhibit the gonadotropic hormonal secretion (40), that may feminize the play behavior in male rats (46) by reducing the plasma testosterone (47), and then increasing the frequency of play in females and, consequently, the frequency of total play of the early underfed subjects studied here. This explanation is strengthened by previous evidence showing that lesions of limbic structures such as the septal area (7) and olfactory bulbs (5), which increase the initiation and frequency of play, are also affected by neonatal undernutrition (1,18). This has also been observed, with delayed vaginal opening (13) and altered immunocytochemical profiles of somatotrophs and gonadotrophs following neonatal food restriction in rats (12).

In recent years, subsequent research on this topic has been shifted from the developmental morphofunctional effects of perinatal stress to changes in the behavioral context associated with weaning manipulation. In this regard, although maternal food provisioning elicited around the age of weaning (day 21) rather than neonatal food restriction may result in higher levels of play patterns (4,42) and learning deficits (23), when weaning is provoked on postnatal days 25, 28, or 30, ameliorated or a lack of effects in play or learning deficits are observed (23,42), suggesting, then, that postweaning behavioral deficits are primarily associated to food and sensory deprivation rather than maternal food provisioning.

Present findings indicate that, in control as in neonatally underfed and sensory-deprived rats, females exhibited higher levels of play than males. These data disagree with previous evidence showing that males are more engaged in play behavior than females (25,33). This sexually dimorphic behavior has been associated to perinatal organizational influences exerted by higher levels of testosterone circulating in males than in females (24,45). However, it is also possible that females of both experimental groups may increase the frequency of total play

TABLE 2  
STATISTICAL COMPARISON OF THE MEAN NUMBER OF CONTACTS DIRECTED TO DIFFERENT BODY AREAS ACCORDING TO NUTRITIONAL CONDITION, SEX, TYPE OF CONTACTS, AND AGE

Factors		Dorsum	Abdominal Lateral Area	Pelvic Area	Nape
Nutritional condition	<i>df</i>	(1,375)	(1,375)	(1,375)	(1,375)
	<i>F</i>	1.270	0.443	2.838	9.129
	<i>p</i>	0.261†	0.506†	0.093†	0.003*
Sex	<i>df</i>	(1,375)	(1,375)	(1,375)	(1,375)
	<i>F</i>	14.006	1.921	0.002	0.745
	<i>p</i>	0.0001*	0.167†	0.964†	0.389†
Type of Contacts (pairs or groups)	<i>df</i>	(1,375)	(1,375)	(1,375)	(1,375)
	<i>F</i>	805.744	317.695	269.466	350.23
	<i>p</i>	0.0001*	0.0001*	0.0001*	0.0001*
Age	<i>df</i>	(5,375)	(5,375)	(5,375)	(5,375)
	<i>F</i>	11.847	10.742	14.895	4.47
	<i>p</i>	0.0001*	0.0001*	0.0001*	0.001*

\*Significant values.

†Nonsignificant differences.

behavior because of the reduced available housing space (2,000 cm<sup>2</sup>) and testing arena (1,256 cm<sup>2</sup>) employed in the present experiment (15). Another possibility concerns to differential effect in the responsiveness of the neural substrate underlying boxing, wrestling, and pinning in females than males, compared to rough-and-tumble play, chasing, social sniffing, and grooming and pouncing play components (20,24, 45). This assumption is strengthened by data showing that some components of self-grooming such as head washing, face washing, fur licking, and body scratching are significantly increased compared to forepaw licking and genital licking, which are scarcely modified in neonatally underfed rats (38). Several studies have suggested that sex differences in play behavior are based on body weight differences between males and females, thus, heavier animals play more than the light ones (27). However, because the magnitude of the differences in frequencies of attack, defense, and counterattack were not correlated with the magnitude in body weight between pair mates (29), then it may be relevant to discern in further studies if the frequency of total play behavior in neonatally undernourished and females may be different in Wistar or another strain of rats in the context of a larger test arena than the control and male subjects. Additionally, our data showed that

heavier control subjects increase their body contacts to the nape region than lighter underfed rats. Besides, with respect to the sex, females increase the number of contacts to the dorsum area possibly to avoid the partner contacts on the nape region for submission, as described elsewhere (32). Moreover, the fact that during the interplay intervals the number of contacts were increased in all body areas may reflect the natural tendency of animals at all ages studied here to interact in pairs during the play behavior (see Table 2).

The present article seems to be the first to show that neonatal undernutrition and sensory deprivation result in increased play behavioral components; however, further studies are required to understand the development of mechanisms through which the sensorial damage associated to different paradigms of undernutrition, the manipulation of specific sensory channels, motivational and emotional changes, etc., are affecting play behavior.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This research was partly supported by DGAPA/UNAM. Proyectos IN208594 and IN200997, CONACyT 3714PN, and CONACyT No. contrato 92021 given to A. Loranca. We thank I. Perez Montfort for editorial assistance.

#### REFERENCES

- Almli, C. P.; Henault, M. A.; Velazco, C. A.; Morgane, P. J.: Ontogeny of electrical activity of main olfactory bulb in freely-moving normal and malnourished rats. *Brain Res.* 350:1-11; 1985.
- Baenninger, L. P.: Comparison of behavioural development in socially isolated and grouped rats. *Anim. Behav.* 15:312-323; 1967.
- Bass, N. H.; Netsky, M. G.; Young, E.: Effect of neonatal malnutrition on the developing cerebrum. I. Microchemical and histological study of cellular differentiation in the rat. *Arch. Neurol.* 23:289-302; 1970.
- Bateson, P.; Mendl, M.; Feaver, J.: Play in the domestic cat is enhanced by rationing of the mother during lactation. *Anim. Behav.* 40:514-525; 1990.
- Beatty, W.; Costello, K.: Olfactory bulbectomy and play fighting in juvenile rats. *Physiol. Behav.* 30:525-528; 1983.
- Beatty, W. J.; Dodge, A. M.; Traylor, K. L.; Meaney, M. J.: Temporal boundary of the sensitive period for hormonal organization of social play in juvenile rats. *Physiol. Behav.* 26:241-243; 1981.
- Beatty, W.; Dodge, A.; Traylor, K.; Donegan, J.; Godding, P.: Septal lesions increase play fighting in juvenile rats. *Physiol. Behav.* 28:649-652; 1982.
- Callison, D. A.; Spencer, J. W.: Effect of chronic undernutrition and/or visual deprivation upon the visual evoked potential from the developing rat brain. *Dev. Psychobiol.* 1:196-204; 1968.
- Clarke, K.; Parker, J.; Smart, J. L.: Analysis of walking locomotion in adult female rats undernourished as suckling. *Physiol. Behav.* 52:823-826; 1992.
- Cragg, B. G.: The development of cortical synapsis during starvation in the rat. *Brain* 95:143-150; 1972.
- Gramsberger, A.; Westerga, J.: Locomotor development in undernourished rats. *Behav. Brain Res.* 48:57-64; 1992.
- Herbert, D. C.; Yashiro, T.; Muraki, T.; Okano, T.; Hattori, A.; Suzuki, T.: Quantitative morphological analysis of the pituitary gland in protein-calorie malnourished rats. *Anat. Rec.* 235:121-125; 1993.
- Kennedy, G. C.; Mitra, J.: Body weight and food intake as initiating factors for puberty in the rat. *J. Physiol.* 166:408-418; 1963.
- Kenny, P. A.; Turkewitz, G.: Effects of unusually early visual stimulation on the development of homing behavior in the rat pup. *Dev. Psychobiol.* 19:57-66; 1986.
- Klinger, H. J.; Kemble, D. E.: Effects of housing space and litter size on play behavior in rats. *Bull. Psychon. Soc.* 23:75-77; 1985.
- Lester, B. M.; Klein, R. E.; Martinez, S. J.: The use of habituation in the study of the effects of infantile malnutrition. *Dev. Psychobiol.* 8:541-546; 1975.
- Lindsley, D. B.: The role of nonspecific reticulothalamocortical system in emotion. In: Black, P., ed. *Physiological correlates of emotion*. New York: Academic Press; 1970:147-188.
- Math, F.; Davrainville, J. L.: Electrophysiological study of the postnatal development of mitral cell activity in the rat olfactory bulb. Influence of undernutrition. *Brain Res.* 194:223-227; 1980.
- Meaney, M. J.; Stewart, J.: Neonatal androgens influence the social play of prepubescent rats. *Horm. Behav.* 15:197-213; 1981.
- Meaney, H. J.; Stewart, J.: A descriptive study of social development in the rat (*Rattus norvegicus*). *Anim. Behav.* 29:34-45; 1981.
- Morgane, P. J.; Austin-La France, R.; Bronzino, J.; Tonkiss, J.; Diaz-Cintra, S.; Cintra, L.; Kemper, T.; Galler, J. R.: Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 17:91-128; 1993.
- Mourek, J.; Himwich, W. A.; Myslivecek, J.; Callison, D.: The role of nutrition in the development of evoked cortical responses in rat. *Brain Res.* 6:241-251; 1967.
- Novakova, V.: Weaning of young rats: Effects of time on behavior. *Science* 151:475-476; 1966.
- Olioff, M.; Stewart, J.: Sex differences in the play behavior of prepubescent rats. *Physiol. Behav.* 20:113-115; 1978.
- Orgeur, P.: Sexual play behavior in lambs androgenized in utero. *Physiol. Behav.* 57:185-187; 1995.
- Panksepp, J.; Beatty, W. W.: Social deprivation and play in rats. *Behav. Neural Biol.* 30:197-206; 1980.
- Panksepp, J.; Siviy, S.; Normansell, L.: The psychobiology of play: Theoretical and methodological perspectives. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 8:465-492; 1984.
- Pellis, S. M.: Sex and the evolution of play fighting: A review and model based on the behavior of muroid rodents. *Play Theory Res.* 1:55-75; 1993.
- Pellis, S. M.; Pellis, V. C.: Differential rates of attack, defense, and counterattack during the developmental decrease in play fighting by male and female rats. *Dev. Psychobiol.* 23:215-231; 1990.
- Pellis, S. M.; Field, E. F.; Smith, L. K.; Pellis, V. C.: Multiple differences in the play fighting of male and female rats. Implications for the causes and functions of play. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 21:105-120; 1997.
- Pellis, S. M.; Mckenna, M. M.; Field, E. F.; Pellis, V. C.; Prusky,

- G. T.; Whishaw, I. Q.: Uses of vision by rats in play fighting and other close-quarter social interactions. *Physiol. Behav.* 59:905-913; 1996.
32. Pellis, S. M.; Pellis, V. C.; Mckenna, M. M.: Feminine dimension in the play fighting of rats (*Rattus norvegicus*) and its defeminization neonatally by androgens. *J. Comp. Psychol.* 108:68-73; 1994.
  33. Poole, T. B.; Fish, J.: An investigation of individual, age and sexual differences in the play of *Rattus norvegicus* (Mammalia: Rodentia). *Proc. Zool. Soc. Lond.* 179:249-260; 1976.
  34. Richmond, G.; Sachs, B. G.: Grooming in Norway rats: The development and adult expression of a complex motor pattern. *Behaviour* 175:82-95; 1980.
  35. Salas, M.; Cintra, L.: Nutritional influences upon somatosensory evoked responses during development in the rat. *Physiol. Behav.* 10:1019-1022; 1973.
  36. Salas, M.; Diaz, S.; Cintra, L.: Thyroid and nutritional influences on electrocortical activity development. In: Grave, G., ed. *Thyroid hormones and brain development*. New York: Raven Press; 1977:255-269.
  37. Salas, M.; Diaz, S.; Nieto, A.: Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Res.* 73:139-144; 1974.
  38. Salas, M.; Pulido, S.; Torrero, C.; Escobar, C.: Neonatal undernutrition and self-grooming development in the rat: Long-term effects. *Physiol. Behav.* 50:567-572; 1991.
  39. Salas, M.; Torrero, C.; Regalado, M.; Martinez-Gomez, M.; Pacheco, P.: Dendritic arbor alterations in the medial superior olivary neurons of neonatally underfed rats. *Acta Anat.* 151:180-187; 1994.
  40. Sessler, F. M.; Cheng, J. T.; Waterhouse, B. D.: Electrophysiological actions of norepinephrin in rat lateral hypothalamus. I. Norepinephrin-induced modulation of LH neuronal responsiveness to afferent synaptic inputs and putative neurotransmitters. *Brain Res.* 446:77-89; 1988.
  41. Siviy, S.; Panksepp, J.: Juvenile play in the rat: Thalamic and brain stem involvement. *Physiol. Behav.* 41:103-114; 1987.
  42. Smith, E. F. S.: The influence of nutrition and postpartum mating on weaning and subsequent play behaviour of hooded rats. *Anim. Behav.* 41:513-524; 1991.
  43. Stern, W. C.; Forbes, W. B.; Resnick, O.; Morgane, P. J.: Seizure susceptibility and brain amine levels following protein malnutrition during development in the rat. *Brain Res.* 79:375-384; 1974.
  44. Thor, D. H.; Holloway, W. R.: Social play in juvenile rats: A decade of methodological and experimental research. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 8:455-464; 1984.
  45. Thor, D. H.; Holloway, W. R.: Social play soliciting by male and female juvenile rats: Effects of neonatal androgenization and sex of cagemate. *Behav. Neurosci.* 100:275-279; 1986.
  46. Ward, I. L.; Stehm, K. E.: Prenatal stress feminizes juvenile play patterns in male rats. *Physiol. Behav.* 50:601-605; 1991.
  47. Ward, I. L.; Weisz, J.: Differential effects of maternal stress on circulating levels of corticosterone, progesterone, and testosterone in male and female rat fetuses and their mothers. *Endocrinology* 114:1635-1644; 1984.

## Efectos de la Desnutrición Neonatal y de la Privación Sensorial sobre el Desarrollo del Juego Social en la Rata (*Rattus norvegicus*)<sup>1</sup>

Effects of neonatal undernutrition and sensory deprivation upon the social play development in the rat (*Rattus norvegicus*)

Angélica Loranca y Manuel Salas

Universidad Nacional Autónoma de México  
Centro de Neurobiología

(Recibido: octubre 22, 1998; aceptado: febrero 2, 1999)

**Resumen:** Se estudiaron los efectos de la deficiente ingesta neonatal de alimento y de estímulos sensoriales, sobre el desarrollo de la conducta social de juego de ratas de la cepa Wistar de 20 a 60 días de edad. La desnutrición se realizó por la separación parcial diaria de las mismas crías (n=4) de la madre en una incubadora a 28°C (12h), del día 1 al 23 postnatal, continuándose posteriormente con una dieta normal hasta el final del estudio. Los resultados mostraron una baja significativa en el peso corporal, y un retraso en la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados de los animales desnutridos. Asimismo, se observó un incremento significativo en el juego total (boxeo, lucha y encimamiento) de los animales desnutridos. El juego también se aumentó significativamente en las hembras con respecto a los machos, durante el juego de pareja comparado con el de conjunto y en el ocurrido durante el periodo prepupal con relación al postpuberal. Los hallazgos sugieren que la reducción temprana de alimento y la pobre estimulación sensorial asociada a ésta, trastorna la maduración de los mecanismos neurales centrales y periféricos que regulan la expresión de la conducta social de juego, y posiblemente el de conductas similares durante la etapa adulta. **Palabras clave:** Desnutrición perinatal, privación sensorial, ratas, conducta de juego

**Abstract:** The effects of neonatal food and sensory deprivation on the development of play social behavior were studied in Wistar strain rats between 20 to 60 days of age. Neonatal undernutrition was carried out by transferring daily (12h) the same half of the litter (n=4) to an incubator (28°C) from postnatal days 1 to 23, and followed by a normal diet until the end of the study. Data showed that neonatally underfed rats were significantly lighter in body weight and ear and eye-opening were also delayed by two days than controls. Moreover, the mean frequency of total play (boxing, wrestling and pinning) was significantly increased in neonatally underfed subjects. The total play was also increased in the females vs the males, during the play in pairs vs the play in group and in the prepupal period vs the postpuberal one. These findings suggest that early food restriction and the unavoidable sensory deprivation associated with this procedure, interfere with the maturational processes of brain modulatory mechanisms of the expression of social play, as they may also modify the manifestation of related behaviors in the adulthood. **Key words:** Neonatal undernutrition, sensory deprivation, rats, play behavior

La conducta social de juego como actividad sensorial y motora, forma parte de todo un conjunto de influencias que durante etapas críticas de la ontogenia neural, contribuyen al desarrollo cerebral y a la adquisición de habilidades para desarrollar patrones motores de diversas conductas que forman parte del repertorio conductual del adulto. Asimismo, se sabe que el juego es una actividad que realizan la mayoría de los mamíferos jóvenes, cuyo desarrollo sigue un curso temporal parecido al de una curva en forma de U invertida. En la rata alcanza su máximo entre los 30 y los 40 días de edad, cuando los mecanismos nerviosos y musculares han madurado lo suficiente para que el sujeto sea capaz de ejecutar movimientos de gran versatilidad (Loranca, Torrero & Salas, 1998; Salas & Cintra, 1973).

En años recientes se ha definido que el desarrollo de la conducta social de juego en los mamíferos, es dependiente de influencias diversas que incluyen al estrés prenatal (Ward & Stehm, 1991), los niveles circulantes de hormonas gonadotrópicas durante el periodo prepupal (Beatty, Dodge, Traylor & Meaney, 1981; Meaney & Stewart, 1981<sub>a</sub>), el aislamiento medioambiental de los sujetos previo al juego (Panksepp &

<sup>1</sup>Correspondencia: Dr. Manuel Salas Alvarado, Centro de Neurobiología, Campus UNAM-UAQ, Juriquilla, Apdo. Postal 1-1141, Querétaro, Qro., 76001, México

Beatty, 1980), las diferencias sexuales entre los sujetos (Meaney & Stewart, 1981<sub>b</sub>) y las dimensiones del espacio en el que se realiza la actividad del juego (Klinger & Kemble, 1985):

En las especies altriciales que muestran una gran inmadurez sensorial y motora al nacimiento y que por tanto requieren de un intenso cuidado materno, la reducción en el aporte de alimento durante el periodo perinatal, provoca alteraciones morfológicas y funcionales permanentes en un gran número de estructuras cerebrales involucradas en la regulación del movimiento. Así por ejemplo, hay una reducción significativa del número y longitud de las dendritas, las espinas y de la laminación de las capas neuronales del área motora (Bass, Netsky & Young, 1970; Pascual, Hervias, Tohá, Valero & Figueroa, 1998; Salas, Díaz & Cintra, 1974), e hipoplasia de las células de Purkinje (Chase, Lindsley & O'Brien, 1969; McConnell & Berry, 1978; Pascual, Hervias, Tohá, Valero & Figueroa, 1998; Sharma, Nayar, Maheshwari & Singh, 1987). Estas alteraciones estructurales frecuentemente se correlacionan con anomalías en el desarrollo nervioso y conductual de funciones como el nado, el aseo, la conducta exploratoria y la respuesta maternal a los recién nacidos (Escobar & Salas, 1987; Franková & Barnes, 1968; Levitsky & Barnes, 1972; Salas, 1972; Salas, Torrero & Pulido, 1984; Salas, Pulido, Torrero & Escobar, 1991).

Considerando estos antecedentes, para el desarrollo de la conducta social de juego la nutrición también parece ser un factor importante que influye en su ontogenia y en su expresión. De acuerdo a nuestro conocimiento, es escasa la información disponible acerca de los efectos provocados por la desnutrición perinatal sobre el desarrollo del juego en la rata. Al respecto se sabe por ejemplo que el destete prematuro en la rata de laboratorio y en el gato, incrementan la conducta de juego, aunque aún se desconoce la participación de las influencias asociadas a la desnutrición, como es el caso de la privación sensorial provocada por el retardo en la maduración sensorial, los trastornos endocrinológicos, el estrés, etc. (Bateson, Mendl & Feaver, 1990; Loranca, Torrero & Salas, 1998; Smith, 1991).

Con base en estos hallazgos y considerando que la desnutrición perinatal se asocia a un deterioro en el desarrollo físico y cerebral, en el presente trabajo se caracterizaron algunos componentes de la conducta social de juego en ratas desnutridas y privadas sensorialmente durante la etapa neonatal, con el propósito de indagar sobre el desarrollo de los mecanismos del control motor.

## METODO

Para este estudio se utilizaron ratas de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) nacidas en el bioterio del Centro de Neurobiología de la UNAM, provenientes de un pié de cría obtenido de "Harlan Sprague Dawley, mantenidas en un cuarto a temperatura controlada a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 40-50% de humedad, con libre acceso al agua y al alimento (chow de Purina) y con un ciclo de 12h de luz (0800 a 2000h) por 12h de obscuridad.

### Animales

Para la obtención de los sujetos experimentales, se aparearon 32 hembras adultas vírgenes (250-300g) colocando 6 hembras con 2 machos en una jaula de plástico transparente (50 X 40 X 20 cm). Tres días antes del parto, las ratas gestantes se colocaron en cajas de maternidad (45 X 30 X 20 cm), con aserrín en el piso (3 cm), verificando diariamente en forma visual la presencia de partos por la mañana y por la tarde. El día del nacimiento se consideró como el día "cero" de edad. Un día después, se mezclaron las crías provenientes de varias camadas nacidas el mismo día y se ajustaron a 8 crías por madre (4 hembras y 4 machos). Esta maniobra, tuvo por propósitos el atenuar los efectos de posibles diferencias genéticas y biológicas prenatales entre las camadas. Para el presente estudio se utilizaron un total de 128 animales distribuidos en 4 grupos: 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).

### Desnutrición neonatal

Con el propósito de desnutrir a los animales, se utilizó el método de separación parcial de las crías en una incubadora, que al mismo tiempo que provoca una baja severa de peso corporal en ellas, disminuye también el ingreso de estímulos sensoriales provenientes de la madre, del nido y del ambiente circundante (grupo desnutrido por privación, DXP) (Salas, Torrero & Pulido, 1984). Para tal fin en todos los casos se removió del nido a la misma mitad de la camada (n=4, hembras o machos), colocando a las crías en una

incubadora con temperatura regulada (28°C) durante 12h (0800 a las 2000h) del día 1 al 23 de edad. Los 4 animales restantes de cada camada permanecieron todo el tiempo con la madre en el nido para evitar la declinación de la lactancia, aunque no se utilizaron en el estudio conductual. El grupo control (Control), se integró con animales provenientes de camadas (n=8 crías/camada) que no fueron molestadas durante su crecimiento, excepto para medir su desarrollo físico y registrar el juego social. Este procedimiento se siguió debido a que manipulaciones leves durante la etapa crítica perinatal, provocan grandes efectos sobre la conducta de los animales adultos (Barnett & Burn, 1967).

Los animales de los distintos grupos experimentales, se destetaron y sexaron a los 25 y 30 días de edad respectivamente, continuando su crecimiento hasta el día 60 de edad en grupos de 4 ratas del mismo sexo por jaula (45 X 30 X 20 cm). El desarrollo físico de los animales, se evaluó a través del registro del peso corporal obtenido cada 5 días (días 5 al 30 postparto) y en los días 40, 50 y 60 de edad. Asimismo, se determinó la apertura de los conductos auditivos externos (días 9 al 16 de edad) y de los párpados (días 13 al 19 postparto) mediante el empleo de una escala de valores relativos, correspondiendo un puntaje de 1, cuando la apertura se inició y 3, cuando ésta alcanzó su máximo valor.

### Registro y evaluación de la conducta social de juego

La conducta social de juego se filmó durante 10 min con una cámara de video (Cannon, E70, 8mm) dentro de un cuarto sonoamortiguado (3.60 X 3.60 X 2.10 m) iluminado con luz roja (75W), colocando simultáneamente 4 ratas del mismo sexo en una arena cilíndrica de plástico transparente (39cm de diámetro X 40cm de altura X 1.5mm de grosor) con cama de aserrín de aproximadamente 3 cm de altura. Las pruebas se llevaron a cabo entre las 1600 y las 2000h, en los días 20, 25, 30, 40, 50 y 60 de edad realizándose de la siguiente manera: los sujetos de cada uno de los grupos se aislaron individualmente en un cuarto sonoamortiguado 20h antes del registro (2000 a 1600h) en una caja de plástico transparente individual (29 X 27 X 12cm) con agua y alimento (chow de Purina) *ad libitum*, excepto para la prueba que se realizó en el día 20 de edad del grupo DXP en la que los sujetos sólo tuvieron agua y alimento por 12h (2000-0800h) para continuar con el proceso de desnutrición.

La conducta de juego fue evaluada por la observación directa de las filmaciones en cámara lenta, cuantificando la frecuencia de los parámetros del juego definidos como sigue: boxeo, 2 ratas permanecen en posición erecta y moviendo sus miembros anteriores en actitud de golpearse; lucha, las ratas ruedan en el piso sujetándose mutuamente y encimamiento, una rata se encima sobre la otra y la que permanece sumisa forcejea para escapar (Fig.1). Con el propósito de caracterizar la interacción social de los sujetos durante el juego, se cuantificaron 2 tipos de juego: en pareja (entre 2 animales) y en conjunto (entre 3 ó 4 sujetos). Finalmente, dada la posible participación de las hormonas gonadales en el desarrollo de la conducta social de juego, éste se cuantificó durante las etapas prepuberal (días 20, 25 y 30 postnatal) y postpuberal (días 40, 50 y 60 postparto). Con el propósito de evaluar el nivel de la conducta afiliativa mostrada por los sujetos entre los accesos de juego como parte del desarrollo de la conducta social, se midió el número de contactos corporales entre los sujetos dirigidos a la región de la nuca, flancos, tren posterior y dorso del cuerpo sólo durante los intervalos donde no hubo actividad de juego. Las mediciones de los componentes del juego social y de los contactos corporales, se realizaron aleatoriamente, ya que el observador no conoció la condición nutricional, edad y sexo de los animales. Estas mediciones se compararon con la cuantificación obtenida en 2 grupos por edad escogidos al azar por otro observador. Dado que la definición operacional de las conductas fue clara, en general no hubo grandes discrepancias en los puntajes obtenidos por cada evaluador; cuando esto ocurrió se recurrió a reevaluar ambas mediciones de la conducta de juego.

### Estadística

Las comparaciones de las distintas mediciones obtenidas entre los grupos experimentales, se realizaron mediante el empleo del paquete estadístico Systat versión 2.1. Para el caso de las diferencias en los pesos corporales se empleó un ANOVA de 2 factores, 2 (condiciones nutricionales) X 9 (edades). Los 3 diferentes parámetros del juego, se evaluaron mediante un análisis de varianza ANOVA multifactorial, 2 (condiciones nutricionales) X 3 (componentes del juego) X 6 (edades) X 2 (tipos de juego) X 2 (periodos de juego peripuberal). Las diferencias en el número de contactos corporales se compararon con un análisis de varianza ANOVA multifactorial, 2 (condiciones nutricionales) X 6 (edades) X 4 (áreas corporales). Para evaluar

las diferencias en los puntajes obtenidos entre los grupos experimentales en días particulares del estudio, se emplearon pruebas post hoc de Tukey cuando fue necesario. Las comparaciones entre los valores obtenidos en los distintos grupos experimentales en la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados, se realizaron empleando pruebas de U de Mann-Whitney. En todas las comparaciones estadísticas se consideró como significativo un nivel  $\alpha$  del 5%.

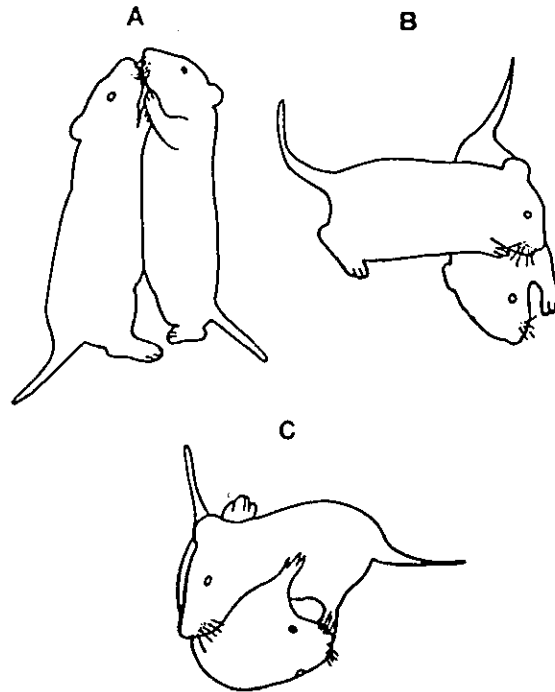


Figura 1. Posturas mostradas por pares de sujetos experimentales durante la expresión de la conducta social de juego: boxeo (A), lucha (B) y encimamiento (C). Ver texto para más detalles.

## RESULTADOS

**Efectos sobre el desarrollo físico.** El peso corporal de los animales DXP de ambos sexos a lo largo de las 9 edades que se consideraron, mostró valores menores estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ) (Fig. 2, A y B) con respecto a sus controles. Además los animales DXP mostraron un retardo de 2 días en la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados con respecto a sus controles (Fig. 2, C y D). Asimismo, se observó una reducción persistente de su talla corporal (Fig. 3), un deterioro en el desarrollo del pelo, el cuál fue más corto, delgado y con implantación rala (no mostrados en el texto).

**Frecuencia del juego social.** El análisis estadístico de cada uno de los parámetros del juego indicó que el boxeo no fue significativamente diferente para la condición nutricional, pero si 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,  $F(5, 375) = 8.72$ ,  $p < 0.0001$ . Asimismo, se encontraron diferencias significativas para las interacciones entre el sexo X el tipo de juego,  $F(1,381) = 12.41$ ,  $p < 0.0001$ ; el sexo X la edad,  $F(5,373) = 2.53$ ,  $p < 0.028$  y el tipo de juego X la edad,  $F(5,373) = 5.80$ ,  $p < 0.0001$ . Para el caso de la lucha si ocurrieron diferencias significativas para la dieta,  $F(1,375) = 21.70$ ,  $p < 0.0001$ , el tipo de juego  $F(1,375) = 155.09$ ,  $p < 0.0001$  y la edad,  $F(5,375) = 51.69$ ,  $p < 0.0001$ , pero no para el sexo. Se encontraron diferencias significativas para las interacciones entre el sexo X el tipo de juego,  $F(1,381) = 3.71$ ,  $p < 0.05$  y el tipo de juego X la edad,  $F(5,373) = 3.86$ ,  $p < 0.002$ . Con respecto al encimamiento, este parámetro mostró diferencias para todos los factores considerados: dieta,  $F(1,375) = 33.28$ ,  $p < 0.0001$ , sexo,  $F(1,375) =$



11.12,  $p < 0.001$ , tipo de juego,  $F(1,375) = 88.58$ ,  $p < 0.0001$  y edad,  $F(5,375) = 52.94$ ,  $p < 0.0001$ . Por otra parte se encontraron diferencias significativas para las interacciones entre el sexo X el tipo de juego,  $F(1,381) = 4.83$ ,  $p < 0.02$  y para el tipo juego X la edad,  $F(5,373) = 2.68$ ,  $p < 0.02$ . Las comparaciones post hoc para los 3 parámetros conductuales, los diferentes sexos, condiciones de nutrición y tipo de juego se muestran en la Tabla 1.

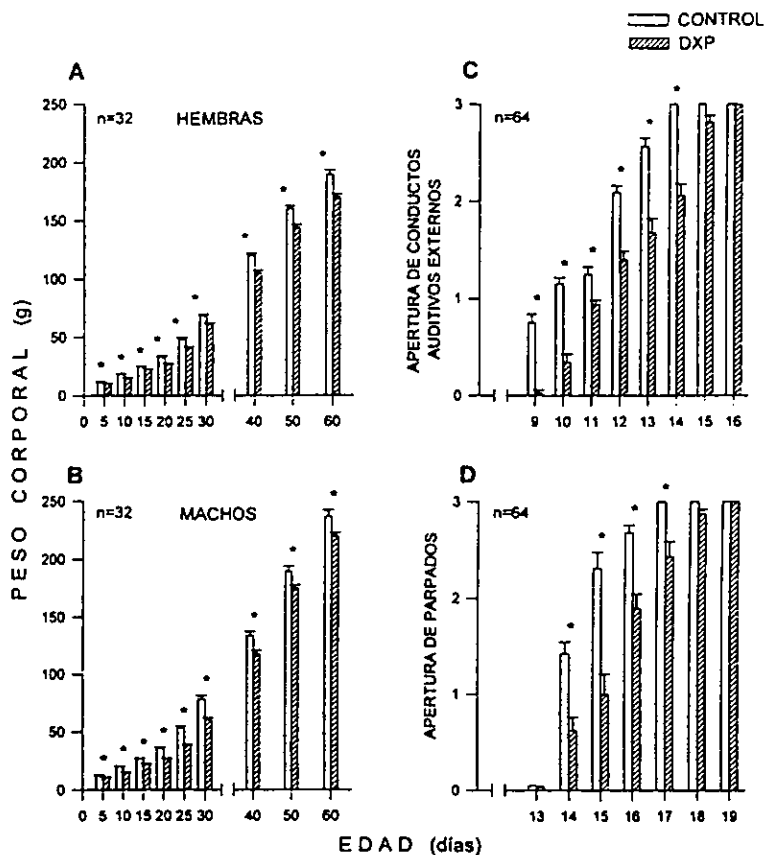


Figura 2. Valores medios ( $\pm$  error estándar) del peso corporal de hembras (A) y machos (B), de la apertura de conductos auditivos externos (C) y de párpados (D), en ratas controles y denutridas (DXP) durante el desarrollo. Nótese la reducción significativa en los valores del peso corporal, y el retardo en la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados en los animales DXP con respecto a sus controles. Los asteriscos encima de las barras en ésta y en las siguientes gráficas indican diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ ).

El análisis de la frecuencia del juego social total, definida como el valor medio de la suma de la frecuencia del boxeo, la lucha y el encimamiento, mostró un incremento significativo en las ratas DXP,  $F(1,375) = 26.745$ ,  $p < 0.0001$  comparadas con sus controles, y en las hembras,  $F(1,375) = 4.807$ ,  $p < 0.029$  comparadas con los machos. El análisis post hoc en cada uno de los días del estudio, reveló incrementos significativos en el juego social total ( $p < 0.05$ ) en los días 20, 25, 40, 50 y 60 postnatales en las ratas DXP (Fig. 4A) y en el día 25 postnatal ( $p < 0.05$ ) en las ratas hembras con respecto a los machos (Fig. 4B). Además los resultados mostraron que el juego social total fue más frecuente durante el juego en pareja,  $F(1,375) = 149.165$ ,  $p < 0.0001$  que en el juego en conjunto, observándose estas diferencias en todas las edades analizadas (Fig. 4C). Asimismo, el juego se presentó con mayor frecuencia en la etapa prepuberal,  $F(1,123) = 21.051$ ,  $p < 0.0001$  con respecto a la postpuberal (Fig. 4D). El análisis estadístico también mostró diferencias significativas sólo para las interacciones entre el sexo X tipo de juego,  $F(1,365) = 5.24$ ,  $p < 0.02$ , y la edad X el tipo de juego  $F(1,365) = 3.81$ ,  $p < 0.002$ .

*Frecuencia del número de contactos inter juego.* Con relación a los efectos de la desnutrición neonatal sobre el valor medio de la frecuencia de los contactos corporales entre los sujetos, se observó que los contactos en la nuca, se dieron significativamente con mayor frecuencia ( $p < 0.003$ ) en los animales controles. En



Figura 3. Rata desnutrida (DXP) y control (C) de 25 días de edad. Nótese la reducción en la talla corporal de la rata desnutrida con respecto a su testigo.

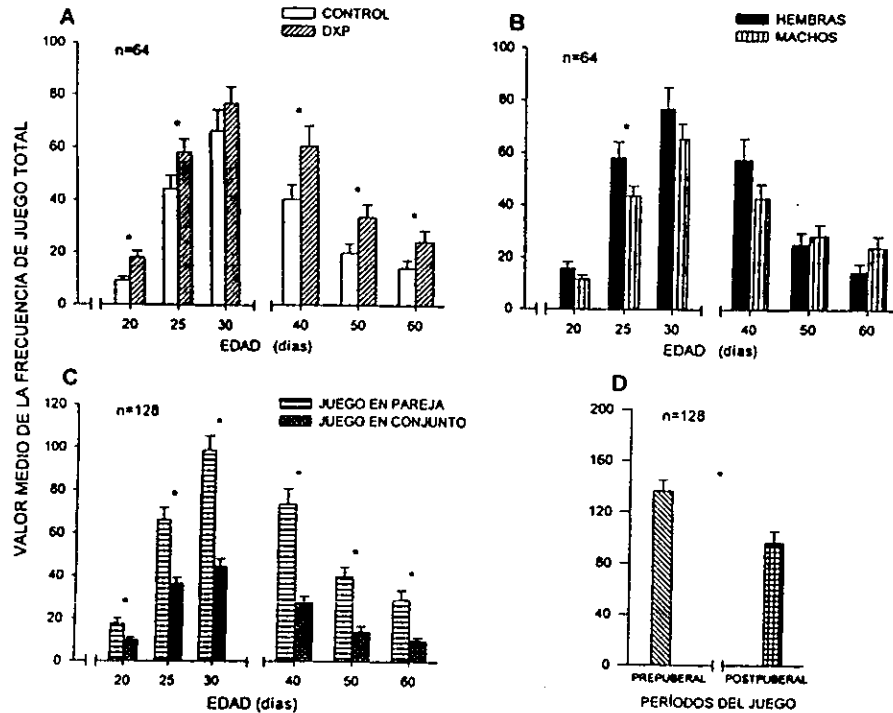


Figura 4. Valores medios ( $\pm$  error estándar) de la frecuencia de juego total (boxeo, lucha y encimamiento), con respecto a la condición nutricional (A), al sexo (B), al tipo de juego (C) y al periodo peripuberal (D). Nótese el incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en la frecuencia del juego en los animales DXP en los días 20, 25, 40, 50 y 60; en las hembras en el día 25; del juego realizado en pareja en todos los días de registro y del juego ocurrido durante el periodo prepuberal.

TABLA 1. Valores medios (M ± EE) de los puntajes obtenidos en los 3 parámetros conductuales, diferentes sexos, condiciones de nutrición y tipo de juego durante el desarrollo en la rata.

Día	Juego en pareja						Juego en conjunto													
	Hembras			Machos			Hembras			Machos										
	Control	DXP	p	Control	DXP	p	Control	DXP	p	Control	DXP	p								
	M	EE	M	EE	M	EE	M	EE	M	EE	M	EE								
<b>BOXEO</b>																				
20	2.25	.72	0.62	.26	ns	0.75	.31	1.12	.47	ns	0	0	0	0	0	0	ns			
25	3.75	1.1	2.12	.51	ns	3.37	1.4	2.00	.62	ns	0	0	0	0	0	0	ns			
30	8.37	2.1	4.25	1.0	ns	4.75	1.6	7.87	1.8	ns	0	0	0	0	0	0	ns			
40	7.50	2.0	13.0	1.6	ns	3.37	.94	2.75	.67	ns	0	0	0	0	0	0	ns			
50	5.80	1.5	5.37	1.7	ns	1.75	.45	3.25	.70	ns	0	0	0	0	0	0	ns			
60	2.62	.84	3.00	.86	ns	1.87	.61	4.00	2.1	ns	0	0	0	0	0	0	ns			
<b>LUCHA</b>																				
20	5.50	1.9	11.6	3.1	ns	2.87	1.3	8.87	1.8	*	4.12	1.3	3.75	.88	ns	1.37	.65	7.25	1.5	*
25	28.3	6.8	43.5	4.5	*	28.1	4.0	23.5	2.5	ns	12.7	3.2	19.1	1.8	ns	14.8	3.0	18.5	2.5	ns
30	46.5	7.1	50.3	3.6	ns	36.6	7.1	42.7	2.6	ns	16.1	3.3	14.0	1.5	ns	19.7	5.1	25.0	1.8	ns
40	24.1	5.3	48.7	6.2	*	27.5	4.5	29.6	7.1	ns	10.6	3.6	13.3	1.6	ns	12.3	2.6	14.3	3.3	ns
50	12.0	3.1	23.2	4.3	*	15.8	4.2	23.8	4.4	ns	2.00	.84	4.62	.90	*	6.50	1.6	9.87	2.8	ns
60	8.62	3.3	10.6	3.0	ns	10.8	3.2	23.0	4.6	*	1.12	.61	4.00	1.2	*	5.12	1.7	7.00	1.0	ns
<b>ENCIMAMIENTO</b>																				
20	7.00	2.1	15.7	4.3	ns	5.12	2.1	8.62	1.8	ns	5.00	1.1	7.87	1.8	ns	3.37	1.3	7.25	1.0	*
25	28.2	5.4	49.2	5.4	*	26.0	5.1	24.7	3.4	ns	15.3	2.7	30.1	2.3	*	15.0	3.2	19.7	2.1	ns
30	53.3	9.1	62.0	6.5	ns	33.6	7.7	44.2	3.0	ns	26.1	4.9	28.3	3.2	ns	20.2	5.7	28.2	1.5	ns
40	28.6	6.9	55.0	4.8	*	23.5	5.5	30.2	7.1	ns	12.3	3.8	18.7	2.3	ns	12.2	3.3	16.7	4.2	ns
50	12.1	2.7	25.2	4.5	*	10.6	3.1	20.7	4.6	*	2.62	.59	8.50	1.8	*	11.1	6.9	10.7	3.7	ns
60	7.12	3.8	14.5	3.4	ns	10.8	3.6	19.3	5.7	ns	2.37	1.2	5.37	1.6	ns	6.87	2.0	7.62	2.7	ns

ns, diferencias no significativas

\* diferencias significativas, p<0.05

cuanto al sexo, los contactos en el dorso fueron más frecuentes en las hembras ( $p < 0.05$ ). Finalmente, para el tipo de contactos (en pareja o en conjunto) en las 4 regiones consideradas, éstos fueron más frecuentes ( $p < 0.0001$ ) cuando los sujetos interactuaron en pareja (Tabla 2).

TABLA 2. Comparación estadística (ANOVA) del número de contactos en las 4 regiones del cuerpo en relación a la condición nutricional, sexo, tipo de contactos y edad durante los accesos de juego en la rata normal y desnutrida.

		DORSO	FLANCOS	TREN POSTERIOR	NUCA
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*
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
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*
EDAD	gl	(5,375)	(5,375)	(5,375)	(5,375)
	F	11.847	10.742	14.895	4.47
	p	0.0001*	0.0001*	0.0001*	0.001*

\*. Diferencias significativas

## DISCUSION

Los hallazgos muestran que el método de privación de alimento que aquí se empleó, fue efectivo para deteriorar significativamente el desarrollo físico de los sujetos DXP. En efecto, el menor peso corporal, la reducción en la talla corporal y el retardo en la apertura de los conductos auditivos externos y de los párpados, son congruentes con los hallazgos obtenidos en estudios previos empleando el mismo procedimiento de desnutrición (Loranca, Torrero & Salas, 1998; Mourek, Himwich, Myslivecek & Callison, 1967; Salas, Pulido, Torrero & Escobar, 1991). Los hallazgos muestran que no obstante que se ha enfatizado que los incrementos en la conducta de juego rudo y agresivo, se correlacionan con el incremento en el peso corporal, (Panksepp, Siviy & Normansell, 1984), por el contrario nuestros animales desnutridos mostraron un incremento en el juego social, con una baja significativa en el peso corporal a lo largo del estudio. Esta aparente controversia, pudiera explicarse sobre la base del tipo de juego que se está considerando, que en nuestro caso se trató de componentes no rudos del juego. En este contexto también se ha descrito que la frecuencia en el ataque, contraataque y defensa durante el juego rudo, no tienen correlación con las diferencias en el peso corporal de los sujetos (Pellis & Pellis, 1990). En nuestros hallazgos la baja de peso corporal, pudiera relacionarse más bien con el juego no rudo, el cual requiere de gran movilidad y destreza y es típico de los sujetos ligeros de peso.

Nuestros hallazgos muestran que la privación tanto de alimento como de estímulos sensoriales, incrementó la frecuencia total del juego social antes del destete. Este efecto, pudiera relacionarse con el aumento en la excitabilidad cerebral a diferentes estímulos sensoriales y a la habilidad para ejecutar distintos patrones de movimiento que se ha descrito durante esta etapa del desarrollo en estudios previos (Math & Davrainville, 1980; Salas & Cintra, 1973; Salas, Díaz & Cintra, 1977; Salas, Pulido, Torrero & Escobar, 1991). Por otra parte, el incremento en la frecuencia del juego social observado durante el periodo postdestete hasta el final del estudio en los animales del grupo DXP, pudiera asociarse con un deterioro en el desarrollo de los mecanismos neurales que participan en la modulación del movimiento. Esta sugerencia se fundamenta en estudios previos realizados en animales adultos tempranamente desnutridos, que muestran incrementos en el autoaseo (Salas, Pulido, Torrero & Escobar, 1991) y alteraciones en la marcha (Clarke, Parker & Smart, 1992; Gramsberger & Westerga, 1992). En este mismo sentido, se sabe que la desnutrición perinatal y el retardo sensorial, interfieren con el curso temporal del fenómeno de la habituación provocado por la aplicación de estímulos acústicos repetitivos (Lester, Klein & Martinez, 1975), y el incremento en las postdescargas de las neuronas mitrales desencadenado por la estimulación repetitiva del bulbo olfatorio (Math & Davrainville, 1980). Esta posibilidad para explicar el incremento en la frecuencia del juego del grupo DXP, también parece tener una base estructural, ya que coexiste con una reducción en el desarrollo del árbol dendrítico de neuronas corticales y subcorticales que participan en la modulación del ingreso de las señales sensoriales al cerebro (Escobar & Salas, 1995; Salas, Torrero & Pulido, 1986; Salas, Torrero, Regalado, Martínez-Gómez & Pacheco, 1994).

Una opción más para explicar el incremento de la conducta social de juego en los sujetos neonatalmente desnutridos y sensorialmente privados, atañe a la consideración de que la desnutrición es un poderoso agente estresante. Así por ejemplo, se sabe que la desnutrición neonatal se asocia con un incremento en los niveles séricos de noradrenalina (Stern, Forbes, Resnick & Morgane, 1974), los cuales incrementan la activación de receptores a la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH), la cual modula la secreción de gonadotropinas (Sessler, Cheng & Waterhouse, 1988), provocando un descenso en la liberación de testosterona como se ha descrito por Ward & Weisz, 1984 e induciendo falta de masculinización en los machos y promoviendo conducta feminoide de juego en éstos, que sumado al juego de las hembras, sería el responsable del incremento de juego total observado en los sujetos desnutridos. Esta sugerencia encuentra apoyo, en los experimentos en los cuales se han lesionado áreas límbicas como la región septal (Beatty, Dodge, Traylor, Donegan & Godding, 1982) y los bulbos olfatorios (Beatty & Costello, 1983), los cuales, provocan un incremento en la conducta de juego y que también muestran alteraciones morfológicas y funcionales asociadas a la desnutrición perinatal (Almli, Henault, Velozco & Morgane, 1985; Math & Davrainville, 1980).

Finalmente los hallazgos presentados indican que en los periodos inter juego los sujetos más pesados (controles), incrementaron sus contactos corporales en la región de la nuca en comparación con los más ligeros (desnutridos). Asimismo, con respecto al sexo el número de contactos a la región del dorso fue mayor en las hembras, posiblemente para esquivar el contacto del compañero de juego en la región de la nuca y de ese modo evitar su sometimiento en el juego como previamente se ha descrito (Pellis, Pellis & McKenna, 1994). El hecho de que se incremente el número de contactos en todas las áreas corporales, puede ser un reflejo de la tendencia natural de los animales para interactuar en parejas durante la actividad del juego. Para nuestro conocimiento este trabajo es el primero que muestra cómo la desnutrición perinatal y la privación sensorial asociada, pueden incrementar la actividad social de juego. A pesar de los conocimientos que actualmente se tienen, se requiere de más estudios que permitan identificar los mecanismos que gobiernan el juego social en \*los sujetos desnutridos durante la vida temprana.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Almli, C. P., Henault, M. A., Velozco, C. A. & Morgane, P. J. (1985). Ontogeny of electrical activity of main olfactory bulb in freely-moving normal and malnourished rats. *Brain Research*, 350, 1-11.
- Barnett, S. A. & Burn, J. (1967). Early stimulation and maternal behaviour. *Nature*, 213, 150-152.
- Bass, N. H., Netsky, M. G. & Young E. (1970). Effect of neonatal malnutrition on the developing cerebrum. I. Microchemical and histological study of cellular differentiation in the rat. *Archives of Neurology*, 23, 289-302.
- Bateson, P., Mendl, M. & Feaver, J. (1990). Play in the domestic cat is enhanced by rationing of the mother during lactation. *Animal Behavior*, 40, 514-525.
- Beatty, W. J., Dodge, A. M., Traylor, K. L. & Meaney, M. J. (1981). Temporal boundary of the sensitive period for hormonal organization of social play in juvenile rats. *Physiology & Behavior*, 26, 241-243.
- Beatty, W., Dodge, A., Traylor, K., Donegan, J. & Godding, P. (1982). Septal lesions increase play fighting in juvenile rats. *Physiology & Behavior*, 28, 649-652.
- Beatty, W. & Costello, K. (1983). Olfactory bulbectomy and play fighting in juvenile rats. *Physiology & Behavior*, 30, 525-528.
- Clarke, K., Parker, J. & Smart, J.L. (1992). Analysis of walking locomotion in adult female rats undernourished as suckling. *Physiology & Behavior*, 52, 823-826.
- Chase, H. P., Lindsley, W. F. B. & O'Brien, D. (1969). Undernutrition and cerebellar development. *Nature*, 221, 554-555.
- Escobar, C. & Salas, M. (1987). Ameliorating effects of early sensory stimulation on the behavior of adult rats underfed during the lactating period. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos Méx.*, 35, 195-202.
- Escobar, C. & Salas, M. (1995). Dendritic branching of claustral neurons in neonatally undernourished rats. *Biology of the Neonate*, 68, 47-54.
- Franková, S. & Barnes, R. H. (1968). Influences of malnutrition in early life on exploratory behavior of rats. *Journal of Nutrition*, 96, 477-481.
- Gramsberger, A. & Westwerga, J. (1992). Locomotor development in undernourished rats. *Behavioural Brain Research*, 48, 57-64.

- Klinger, H. J. & Kemble, D. E. (1985). Effects of housing space and litter size on play behavior in rats. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 23, 75-77.
- Lester, B. M., Klein, R. E. & Martinez, S. J. (1975). The use of habituation in the study of effects of infantile malnutrition. *Developmental Psychobiology*, 8, 541-546.
- Levitsky, D. A. & Barnes, R. H. (1972). Nutritional and environmental interactions in the development of the rat: Long-term effects. *Science*, 176, 68-71.
- Loranca, A., Torrero, C. & Salas, M. (1998). Development of play behavior in neonatally undernourished rats. *Physiology & Behavior*. En prensa.
- Math, F. & Davrainville, J. L. (1980). Electrophysiological study of the postnatal development of mitral cell activity in the rat olfactory bulb. Influences of undernutrition. *Brain Research*, 194, 223-227.
- McConnell, P. & Berry, M. (1978). The effect of refeeding after neonatal starvation of Purkinje cell dendritic growth in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 178, 759-772.
- Meaney, H. J. & Stewart, J. (1981a). A descriptive study of social development in the rat (*Rattus norvegicus*). *Animal Behavior*, 29, 34-45.
- Meaney, H. J. & Stewart, J. (1981b). Neonatal androgens influence the social play of prepubescent rats. *Hormones & Behavior*, 15, 197-213.
- Mourek, J., Himwich, W. A., Myslivecek, J. & Callison, D. A. (1967). The role of nutrition in the development of evoked cortical responses in rat. *Brain Research*, 6, 241-251.
- Panksepp, J. & Beatty, W. W. (1980). Social deprivation and play in rats. *Behavioral and Neural Biology*, 30, 197-206.
- Panksepp, J., Siviy, S. M. & Normansell, L. A. (1984). The psychobiology of play: Theoretical and methodological considerations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 8, 465-492.
- Pascual, R., Hervias, M. C., Tohá, M. E. Valero, A. & Figueroa, H. R. (1998). Purkinje cell impairment induced by early movement restriction. *Biology of the Neonate*, 73, 47-51.
- Pellis, S. M. & Pellis, V. C. (1990). Differential rates of attack, defense, and counterattack during the developmental decrease in play fighting by male and female rats. *Developmental Psychobiology*, 23, 215-231.
- Pellis, S. M., Pellis, V. C. & McKenna, M. M. (1994). Feminine dimension in the play fighting of rats (*Rattus norvegicus*) and its defeminization neonatally by androgens. *Journal of Comparative Psychology*, 108, 68-73.
- Salas, M. (1972). Effects of early malnutrition on the development of swimming ability in the rat. *Physiology & Behavior*, 8, 119-122.
- Salas, M. & Cintra, L. (1973). Nutritional influences upon somatosensory evoked responses during the development in the rat. *Physiology & Behavior*, 10, 1019-1022.
- Salas, M., Díaz, S. & Cintra, L. (1974). Effects of neonatal food deprivation on cortical spines and dendritic development of the rat. *Brain Research*, 73, 139-144.
- Salas, M., Díaz, S. & Cintra, L. (1977). Thyroid and nutritional influences on electrocortical activity development. En: G. Graves. (Ed.), *Thyroid Hormones and Brain Development*. (pp. 255-269). Raven Press, New York.
- Salas, M., Torrero, C. & Pulido, S. (1984). Long-term alterations in the maternal behavior of neonatally undernourished rats. *Physiology & Behavior*, 33, 273-278.
- Salas, M., Torrero, C. & Pulido, S. (1986). Undernutrition induced by early pup separation delays the development of the thalamic reticular nucleus in rats. *Experimental Neurology*, 93, 447-455.
- Salas, M., Pulido, S., Torrero, C. & Escobar, C. (1991). Neonatal undernutrition and self-grooming development in the rat: Long-term effects. *Physiology & Behavior*, 50, 567-572.
- Salas, M., Torrero, C., Regalado, M., Martínez-Gomez, M. & Pacheco, P. (1994). Dendritic arbor alterations in the medial superior olivary neurons of neonatally underfed rats. *Acta Anatomica (Basel)*, 151, 180-187.
- Sessler, F. M., Cheng, J. T. & Waterhouse, B. D. (1988). Electrophysiological actions of norepinephrine in rat lateral hypothalamus. I. Norepinephrin-induced modulation of LH neuronal responsiveness to afferent synaptic inputs and putative neurotransmitters. *Brain Research*, 446, 77-89.
- Sharma, S. K., Nayar, U., Maheshwari, M. C. & Singh, B. (1987). Effect of undernutrition on developing rat cerebellum: some electrophysiological and neuromorphological correlates. *Journal of Neurological Science*, 78, 261-272.

- Smith, E. F. S. (1991). The influence of nutrition and postpartum mating on weaning and subsequent play behavior of hooded rats. *Animal Behavior*, *41*, 513-524.
- Stern, W. C., Forbes, W. B., Resnick, O. & Morgane, P. J. (1974). Seizure susceptibility and brain amine levels following protein malnutrition during development in the rat. *Brain Research*, *79*, 375-384.
- Ward, I. L. & Stehm, K. E. (1991). Prenatal stress feminizes juvenile play patterns in male rats. *Physiology & Behavior*, *50*, 601-605.
- Ward, I. L. & Weisz, J. (1984). Differential effects of maternal stress on circulating levels of corticosterone, progesterone, and testosterone in male and female rat fetuses and their mothers. *Endocrinology*, *114*, 1635-1644.