



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFFECTO DE LA MALNUTRICIÓN PROTEÍNIC PERINATAL
SOBRE EL RITMO DIARIO DE MEMORIA ESPACIAL EN LA
RATA MACHO JUVENIL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

SAMANTHA DÁVALOS SEGURA



**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. PILAR DURÁN HERNÁNDEZ
2015**

CIUDAD UNIVERSITARIA, D. F.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumno
Dávalos
Segura
Samantha
57 58 89 57
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
306211245
2. Datos del tutor
Dra.
Pilar
Durán
Hernández
3. Datos del Sinodal 1
Dr.
Manuel
Miranda
Anaya
4. Datos del Sinodal 2
Dr.
Adolfo
Andrade
Cetto
5. Datos del Sinodal 3
Dra. María Guadalupe
Flores
Cruz
6. Datos del Sinodal 4
Dra.
Leticia
Granados
Rojas
7. Datos del trabajo escrito
Efecto de la malnutrición proteínica perinatal sobre el ritmo de memoria espacial en la
rata macho juvenil.
76p.
2015

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por ser la oportunidad de miles de mexicanos de tener una educación de alto nivel y contribuir con esto a la formación de recursos humanos que requiere el país para su desarrollo. Particularmente le agradezco por darme la oportunidad de expandir mis horizontes en más de una manera, contribuyendo en gran medida a mi desarrollo profesional.

A mi segunda casa, la Facultad de Ciencias por ser un espacio generador no solo de ciencia, sino de pensadores críticos que toman acciones en los problemas sociales, y a la carrera de Biología por recordarnos la majestuosidad de la vida en todas sus formas y generar científicos comprometidos con la sociedad.

A mi tutora la Dra. Pilar Durán por todo su apoyo y guía tanto en lo académico como en lo personal, por guiarme en el camino y apoyarme a seguir creciendo para lograr mis metas. Gracias por todo el esfuerzo, la paciencia y el tiempo puesto en este proyecto.

A mis sinodales, el Dr. Manuel Miranda, el Dr. Adolfo Andrade, la Dra. Guadalupe Flores y la Dra. Leticia Granados por el apoyo, la paciencia y el tiempo dedicado a este trabajo. Les agradezco todos los comentarios, críticas y explicaciones que enriquecieron mi trabajo y complementaron mi formación.

A mis padres por su apoyo incondicional en todo momento y para cualquier proyecto, no estaría aquí si no fuera por ustedes. Gracias por todos los consejos y regaños, pero sobre todo por los gratos momentos juntos, les estoy infinitamente agradecida.

A mi hermana Stephanie por ser la mejor compañera de aventuras, por escucharme, aconsejarme, enseñarme y apoyarme en todo, gracias por ser mi cómplice.

A toda mi familia por estar siempre presente y ser tan única. A mis primos, por ser siempre la mejor compañía para todo, en especial a Eric y Gaby, por estar ahí cuando nadie más lo hace y compartir locuras.

A Luis por siempre compartir su alegría y dejarme los mejores recuerdos, por enseñarme a ver la vida de otra manera y cuidarme siempre; por todo lo vivido juntos, agradezco haberte conocido. Siempre estas presente.

A mis amigos, los que llevan años ahí, los que ya no lo son y los que he conocido recientemente, gracias por compartir conmigo parte de sus vidas, por todas las risas, viajes, aventuras y consejos; por todo lo vivido y aprendido. Por hacerme crecer de distintas maneras y hacer todos estos años tan agradables.

A los que se han ido, y a los que están: Gracias por todo.

ÍNDICE

1. RESUMEN	6
2. ANTECEDENTES	7
2.1 ¿QUÉ ES LA MALNUTRICIÓN?	7
<i>SITUACIÓN MUNDIAL</i>	8
<i>PANORAMA EN MÉXICO</i>	9
2.2 DESARROLLO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL EN MAMÍFEROS.....	10
<i>PERÍODOS CRÍTICOS</i>	11
<i>LA MALNUTRICIÓN Y EL DESARROLLO DEL SNC</i>	13
2.3 APRENDIZAJE Y TIPOS DE MEMORIA.....	15
<i>MEMORIA ESPACIAL Y EL HIPOCAMPO</i>	17
<i>LA MALNUTRICIÓN, EL HIPOCAMPO Y LA MEMORIA ESPACIAL</i>	20
2.4 RITMOS CIRCADIANOS.....	24
<i>RITMOS CIRCADIANOS Y MEMORIA</i>	27
<i>MALNUTRICIÓN Y NUCLEO SUPRAQUIASMÁTICO</i>	28
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	30
4. HIPÓTESIS	31
5. OBJETIVOS	
5.1 OBJETIVOS GENERALES.....	31
5.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	31
6. MATERIAL Y MÉTODO	32
6.1 OBTENCIÓN DE ANIMALES Y MODELO DE MALNUTRICIÓN.....	32
6.2 RITMO DE INGESTA DE AGUA.....	34
6.3 LABERINTO ACUÁTICO DE MORRIS.....	36

7. ANÁLISIS DE DATOS	40
8. RESULTADOS	41
8.1 PESO.....	41
8.2 RITMO DE INGESTA DE AGUA.....	41
8.3 LABERINTO ACUÁTICO DE MORRIS.....	45
EVALUACIÓN DEL APRENDIZAJE.....	45
EVALUACIÓN DE MEMORIA ESPACIAL.....	57
9. DISCUSIÓN	60
10. CONCLUSIONES	69
11. REFERENCIAS	70

RESUMEN

Los problemas relacionados con la alimentación son graves en todo el mundo, siendo los niños uno de los grupos más afectados (WHO). La malnutrición proteínica es uno de los principales problemas, afectando el desarrollo del cerebro con efectos a largo plazo y llevando a déficits permanentes en el aprendizaje y comportamiento (Morgane *et al.*, 2002). En México se estima que 2.8% de niños menores a 5 años presentan bajo peso y 13.6% baja talla (Gutiérrez *et al.*, 2012).

Durante el desarrollo del organismo, y en especial del sistema nervioso central (SNC), las proteínas son de vital importancia, por lo que al haber un déficit diversas estructuras resultan afectadas. El hipocampo es una de éstas, el cual nos interesa por estar involucrado en funciones de memoria y aprendizaje, principalmente de características espaciales (Morris, 1984).

Diversos estudios en mamíferos indican que la memoria y el aprendizaje presentan variaciones circadianas, las cuales podrían estar dirigidas por el reloj maestro, el Núcleo Supraquiasmático (NSQ). Estructura que también se ve afectada por la malnutrición proteínica (Valentinuzzi *et al.*, 2004; Kinney *et al.*, 2003; Duran *et al.*, 2011).

El objetivo de este trabajo fue determinar los efectos de la malnutrición proteínica perinatal en el ritmo diario de aprendizaje y memoria espacial, así como su afectación en el ritmo de ingesta de agua. Se utilizaron ratas macho juvenil Sprague-Dawley de 45 días de edad divididos en dos grupos: control (CT) y malnutrido crónico (MC). Cada grupo se dividió a su vez en 4 subgrupos (n=5) para ser evaluados en diferentes puntos temporales a lo largo del día. Se registró el perfil de ingesta de agua de manera continua durante todo el experimento y se realizó un perfil de eficiencia de aprendizaje y memoria espacial utilizando el Laberinto Acuático de Morris (LAM). El LAM se realizó en cuatro diferentes puntos temporales (ZT1, ZT7, ZT13 y ZT19), probándose cada subgrupo en un punto diferente.

Los resultados muestran que el ritmo de ingesta de agua es similar entre grupos, al igual que el proceso de aprendizaje en las diferentes horas del día, mostrando que ambos grupos aprenden la tarea de manera similar. Sin embargo, al analizar el proceso de memoria espacial sí se encontraron diferencias importantes. Se observan variaciones dependientes de la hora del día en la memoria a corto y largo plazo en el grupo control, mientras que en el grupo MC éstas no se observan. Estas variaciones a lo largo del día se definen como un ritmo diario de memoria espacial ($p < 0.05$).

Las diferencias encontradas en la memoria espacial entre grupos parece indicar que la malnutrición perinatal produce un incorrecto desarrollo y funcionamiento de las estructuras involucradas en los procesos de memoria y ritmicidad, y/o una incorrecta sincronización o comunicación entre éstas; resultando esto en alteraciones importantes que pueden afectar el desarrollo del organismo a lo largo de su vida.

Palabras clave: Malnutrición proteínica, Núcleo Supraquiasmático, Ritmos biológicos, Memoria espacial, Laberinto Acuático de Morris.

ANTECEDENTES

En la actualidad, los problemas relacionados con la alimentación son graves en todo el mundo, pudiendo derivar en distintas complicaciones en la salud de los individuos. Uno de los más importantes es la malnutrición (MN), con 842 millones de personas sub-nutridas en el período de 2011-2013 (12% de la población mundial) (FAO, 2014), en donde los niños, principalmente de 0 a 5 años, son el grupo más afectado (WHO, WFP, UNICEF).

¿QUÉ ES LA MALNUTRICIÓN?

La malnutrición es definida por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) como la “condición fisiológica anómala causada por una ingestión alimentaria inadecuada, desequilibrada o excesiva de macronutrientes y/o micronutrientes. La malnutrición incluye tanto la desnutrición como a la sobrealimentación, así como las deficiencias de micronutrientes”.

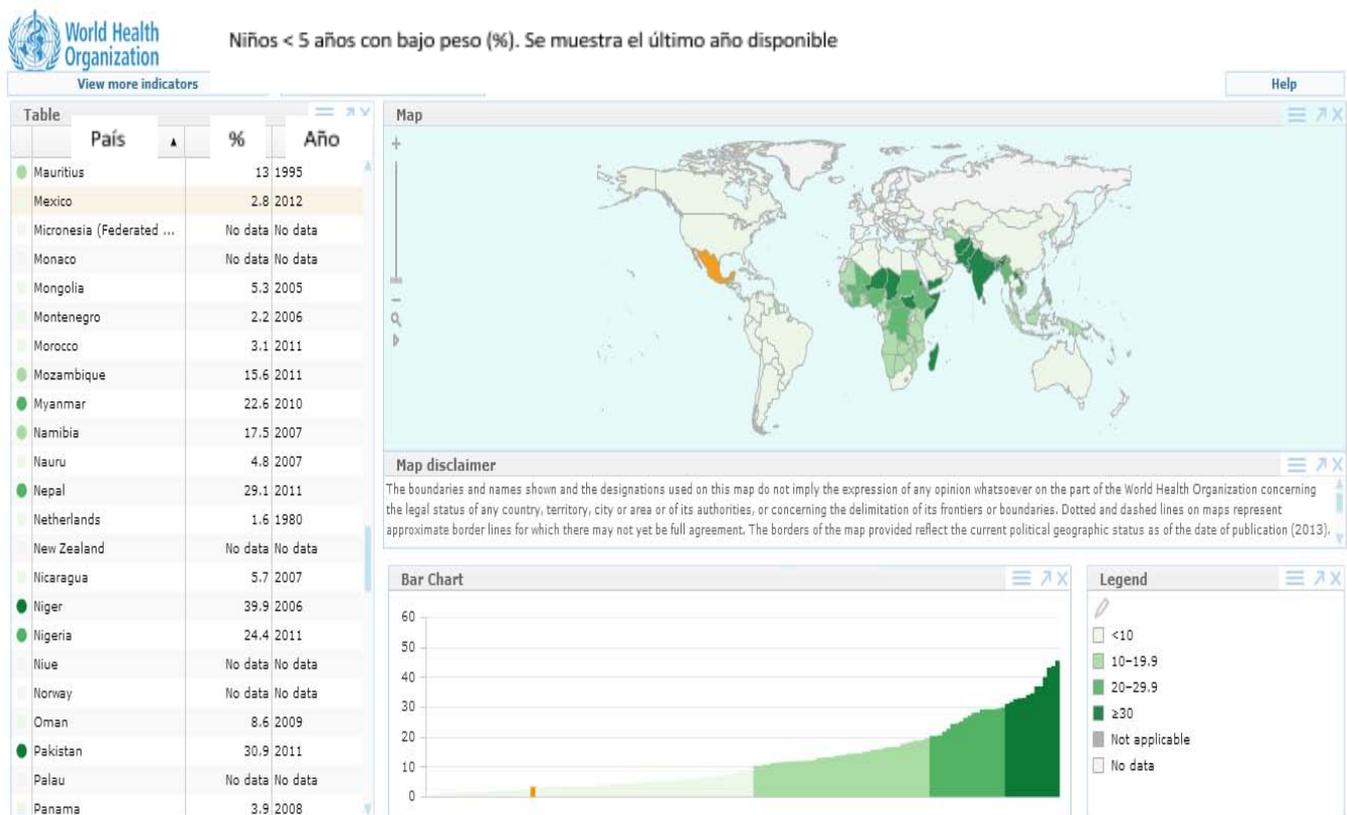
De acuerdo a esta definición la malnutrición incluye a la desnutrición, no obstante al revisar la terminología utilizada por la comunidad científica vemos que estos dos términos se refieren a distintas condiciones, donde la desnutrición es la condición en que todos los nutrientes requeridos se encuentran en la dieta pero en cantidades insuficientes; mientras que la malnutrición se refiere a la falta de uno o más de los nutrientes en la dieta, o presente pero en proporciones inadecuadas (Morgane *et al.*, 2002; Ranade *et al.*, 2008).

La Organización Mundial de la Salud califica la malnutrición infantil como un pobre desarrollo de los niños, tomando en cuenta talla y peso. En el 2012 se estimó que uno de cada 4 niños en el mundo presenta baja talla y en países en desarrollo se tiene un estimado de 97 millones de niños (17%) que presentan bajo peso (WFP, FAO, WHO). Dentro de éstos, 20 millones de niños en edad pre-escolar presentan malnutrición aguda severa; lo cual se ha observado, provoca afectación en el desarrollo intelectual.

SITUACIÓN MUNDIAL

A nivel mundial el tipo de malnutrición infantil que se refleja como baja talla y peso es más común en el sur de Asia (30%), África occidental (20%), oriental (19%) y central (16%). La situación es mejor en Latinoamérica y el Caribe, en donde menos del 10% de los niños presentan esta condición. Independientemente de la región, las zonas rurales siempre son las más afectadas (WHO).

El siguiente mapa (Fig. 1) muestra la malnutrición infantil, medida como bajo peso, a nivel mundial. En la región de América Latina y el Caribe se tiene un estimado de 7.1 millones de niños menores de 5 años que presentan baja talla y cerca de 1.9 millones con bajo peso (FAO, 2014).



Use your mouse to select data. Use Ctrl-key to make multiple selections. Click on the right mouse button to clear selections.

© WHO 2014. All Rights Reserved.

Figura 1. Situación de malnutrición infantil a nivel mundial, medida como bajo peso, en niños menores de 5 años. Datos disponibles de cada país a partir del año 2000. Los países están marcados con diferentes colores dependiendo del porcentaje de niños que presentan malnutrición; resaltado en naranja México (Imagen tomada y modificada de WHO).

PANORAMA EN MÉXICO

En México datos del 2009 indican que un 7.3% de los nacimientos presentaron bajo peso (menor a 2500g) (UNICEF). Los últimos datos presentados por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del 2012 estiman que en el país 302,279 niños menores de 5 años de edad (2.8%) presentan bajo peso; 1, 467,757 (13.6%) baja talla y 171,982 (1.6%) emaciación o peso bajo para la talla (Gutiérrez *et al.*, 2012; WHO).

La talla se considera un buen índice del estado general de nutrición que han tenido los individuos, por lo que una talla baja refleja efectos negativos acumulados a lo largo del tiempo. En México, a lo largo de los años, la zona sur del país es la que presenta mayores prevalencias de baja talla (19.2%), siendo las zonas rurales las más afectadas (27.5%). Esta misma tendencia se observa en todo el país (Fig. 2) (Gutiérrez *et al.*, 2012).

Tomando en cuenta todos estos antecedentes se decidió utilizar el modelo de malnutrición proteínica perinatal debido a que este tipo de malnutrición crónica es la forma clásica y más prevalente de malnutrición en humanos, en donde no hay una cantidad adecuada de proteína de alta calidad en la dieta y/o se da la sustitución de proteínas por grasas y carbohidratos (Morgane *et al.*, 1978), por lo que los niños en estado gestacional se ven afectados ya que se encuentran en etapas vulnerables de su desarrollo, incluido el del cerebro (Morgane *et al.*, 2002).

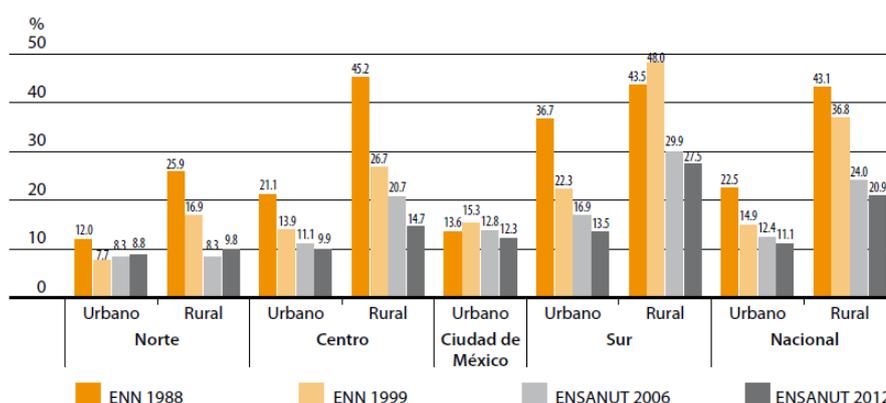


Figura 2. Comparativo de prevalencia nacional de baja talla en menores de cinco años por región y por tipo de localidad en las diferentes encuestas de 1988, 1999, 2006 y 2012 en México. (Imagen tomada de Gutiérrez *et al.*, 2012).

Para entender los efectos de la malnutrición en el cerebro, primero hay que entender el proceso de desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC) en situaciones normales.

DESARROLLO DEL SISTEMA NERIVIOSO CENTRAL EN MAMÍFEROS

El proceso de desarrollo del Sistema Nervioso Central (SNC) ocurre como una secuencia precisa de eventos, en donde cada uno de ellos es requisito esencial para el siguiente, por lo que un daño en alguna de las etapas afectará las siguientes. Estos eventos se encuentran regulados por procesos tanto intrínsecos como extrínsecos al cerebro (Morgane *et al.*, 1993; SfN, 2008).

Williams y Herrup (1988) mencionan que el desarrollo del SNC puede verse en 3 etapas mayores que se sobreponen. La primera es el desarrollo genético del sistema nervioso, lo cual se encuentra relacionado con las instrucciones de proliferación y muerte. En la segunda etapa el sistema nervioso embrionario emerge, aquí se define el tamaño y forma del SNC, y por último, la tercera fase comienza cuando el cerebro se vuelve funcionalmente organizado y el organismo comienza a interactuar con su ambiente. Durante este último periodo es que se redefine la organización neuronal en términos de forma, número y distribución (Morgane *et al.*, 1993).

Por otro lado, la histogénesis del SNC en todos los mamíferos puede dividirse en 3 principales etapas:

1. Organogénesis: formación del sistema nervioso primordial y principales regiones cerebrales en el embrión (Fig. 3).
2. Producción glial y neuronal: generación inicial de neuronas a partir de células precursoras indiferenciadas.
3. Diferenciación de neuronas inmaduras y glía: migración de las neuronas de los sitios de generación a sus posiciones finales (Morgane *et al.*, 1993; Purves *et al.*, 2004).

En todos estos procesos el factor tiempo es vital (Morgane *et al.*, 1993).

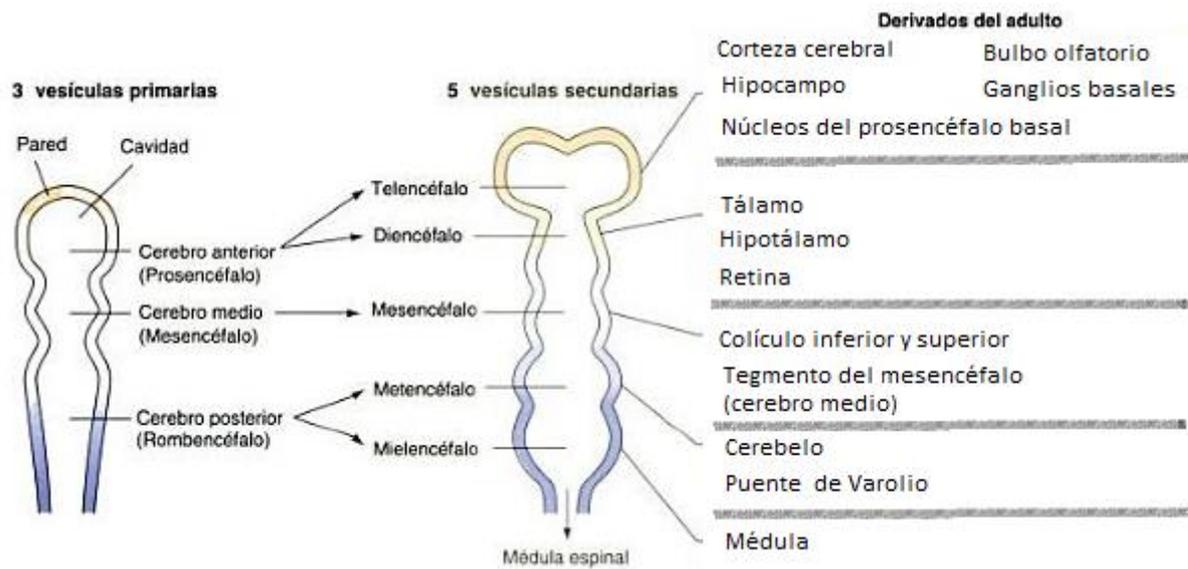


Figura 3. Desarrollo temprano del cerebro. Las 3 vesículas primarias se subdividen a medida que el desarrollo continúa. A la derecha hay una lista de los derivados en el adulto (Purves et al., 2004) (Imagen tomada y modificada de Gilbert, 2005)

Es importante mencionar que el proceso de maduración no es un proceso lineal (Morgane et al., 2002), sino que las áreas cerebrales tienden a desarrollarse por saltos, en etapas temporales que siguen una secuencia precisa, se sobreponen y son diferentes en las distintas regiones del cerebro e incluso dentro de una región particular (Morgane et al., 1993; Morgane et al., 2002), siguiendo cada región una secuencia de desarrollo intrincadamente planeada y precisamente cronometrada en relación con otras regiones interrelacionadas (Morgane et al., 1978; Morgane et al., 2002). Esto nos lleva al término de períodos críticos.

PERÍODOS CRÍTICOS

Un período crítico en el desarrollo se refiere al período pico de actividad de eventos específicos como son la neurogénesis, gliogénesis, entre otros (Morgane et al., 1993), que representa una ventana de desarrollo crucial, altamente limitada en tiempo y que sólo ocurre una vez, por lo que no puede repetirse, invertirse o recuperarse posteriormente. Por lo tanto, después de un verdadero período crítico, sólo queda plasticidad limitada en el sistema (Morgane et al., 2002).

Todos los procesos de desarrollo tienen períodos críticos, cuya duración e importancia dependen de las tasas de cambio de estos procesos. En el cerebro embrionario muchos

procesos críticos aceleran su actividad por cortos períodos de tiempo y después cesan completamente, volviéndose particularmente vulnerables a perturbaciones (Morgane *et al.*, 1993). Debido a esto, una alteración durante estos períodos puede tener serias consecuencias, como en el caso de la MN durante el desarrollo.

Debido a que de manera general todos los mamíferos exhiben una secuencia de desarrollo del SNC similar (Laus *et al.*, 2011; Morgane *et al.*, 1993), siendo la única diferencia substancial el momento de nacimiento en relación con la etapa de maduración cerebral (Fig. 4) (Morgane *et al.*, 1993), es que se considera a la rata como un buen modelo para el estudio de estas afectaciones. Además, se ha observado que la MN produce alteraciones cerebrales similares en humanos y roedores (Resnick *et al.*, 1982; Laus *et al.*, 2011), por lo que es posible hacer comparaciones al estudiar procesos cognoscitivos si nos enfocamos en los procesos psicológicos básicos involucrados (como aprendizaje, memoria y emoción)(Laus *et al.*, 2011).

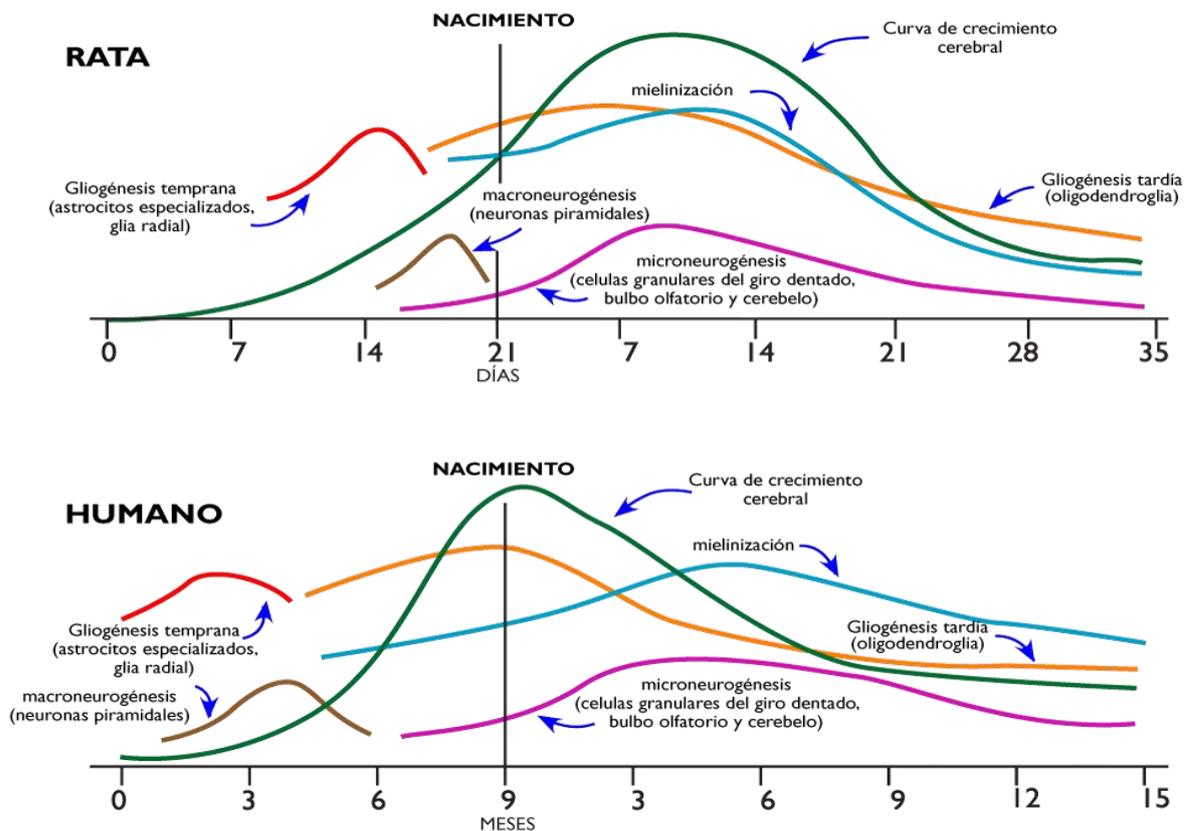


Figura 4. Comparación de los períodos críticos del desarrollo del cerebro tanto en rata (arriba) como en humanos (abajo). Se observa la duración y secuencia de los diferentes períodos críticos antes y después del nacimiento, hasta el fin del desarrollo del cerebro (Imagen tomada y modificada de Morgane *et al.*, 2002)

LA MALNUTRICIÓN EN EL DESARROLLO DEL SNC

La nutrición es uno de los principales factores no genéticos que afectan la maduración y el desarrollo funcional del cerebro con efectos a largo plazo (Morgane *et al.*, 2002; Meryem y Wail, 2012).

Todos los nutrientes tienen alguna influencia en la maduración cerebral, pero las proteínas parecen ser el componente crítico para el desarrollo de las funciones neurológicas, debido a que contienen aminoácidos esenciales para el desarrollo. Se sabe que el mayor conducto para los nutrientes es la placenta (Morgane *et al.*, 1993), sin embargo las proteínas no la cruzan en cantidades significativas, solamente lo hacen los aminoácidos. Debido a esto, el valor nutritivo de las proteínas en la dieta durante el embarazo reside en los aminoácidos esenciales que son absorbidos por el sistema digestivo materno. Por lo tanto, la disminución del aporte proteínico de la dieta materna puede tener efectos deletéreos en el desarrollo del feto (Zamenhof, 1991; Morgane *et al.*, 2002; Resnick *et al.*, 1982).

Los aminoácidos tienen diversas funciones, entre ellas ser precursores directos de enzimas, hormonas peptídicas, neuropéptidos y de proteínas estructurales esenciales para el crecimiento de los tejidos corporales (Morgane *et al.*, 2002; Valadares *et al.*, 2010; Zamenhof, 1991), además pueden funcionar como antioxidantes intracelulares (Bonatto *et al.*, 2005; Feoli *et al.*, 2006; Meryem y Wail, 2012). Por lo tanto, la malnutrición proteínica impacta funciones fisiológicas, bioquímicas y conductuales de manera duradera (Tonkiss *et al.*, 1993; Meryem y Wail, 2012).

En caso necesario las reservas de grasa y proteínas almacenadas por la madre durante el embarazo temprano pueden servir como acceso de nutrientes al feto. Sin embargo, después de un tiempo habrá una competencia activa entre madre y feto por los aminoácidos disponibles, por lo que el suplemento al feto será deficiente (Resnick *et al.*, 1982). Además, se ha reportado disminución en el radio de transferencia de aminoácidos de la sangre materna al feto debido a la MN (Rosso, 1975).

La malnutrición también afecta el período de lactancia ya que se produce menos leche de lo normal, perjudicando la nutrición de las crías (Resnick *et al.*, 1982; Morgane *et al.*, 1978). Asimismo, se ha observado que en ratas el comportamiento de la madre y de

las crías puede verse alterado, provocando cambios en diversos comportamientos y en la interacción con el ambiente (Tonkiss *et al.*, 1993; Laus *et al.*, 2011; Morgane *et al.*, 1993). Ya que la maduración del SNC y el desarrollo de capacidades conductuales óptimas dependen de la herencia, estimulación ambiental y nutrición (Morgane *et al.*, 1993; Morgane *et al.*, 2002), los procesos cognoscitivos se pueden ver afectados en más de una manera (Laus *et al.*, 2011; Morgane *et al.*, 1993).

En niños se ha asociado la MN con afectaciones en procesos cognoscitivos (Laus *et al.*, 2011). Algunos de estos son bajo cociente intelectual al emplearse una adaptación de la escala de inteligencia infantil de Wechsler (Kar *et al.*, 2008; Laus *et al.*, 2011), disminución de la capacidad de atención, alteraciones del comportamiento (Morgane *et al.*, 1978; Resnick *et al.*, 1982; Cintra *et al.*, 1997; Laus *et al.*, 2011), afectaciones en el lenguaje (Kar *et al.*, 2008; Laus *et al.*, 2011), en la percepción y funciones visuo-espaciales (Kar *et al.*, 2008; Resnick *et al.*, 1982; Laus *et al.*, 2011), déficits en habilidades analíticas y razonamiento abstracto (Laus *et al.*, 2011; Resnick *et al.*, 1982) y deficiencias en memoria y aprendizaje (Laus *et al.*, 2011) del tipo verbal y de trabajo (Kar *et al.*, 2008). Sin embargo, en estos casos es difícil separar los efectos de la dieta y los socioeconómicos (Morgane *et al.*, 1978).

Por otro lado, los estudios con ratas en los diferentes períodos de desarrollo han mostrado que las afectaciones debido a MN son sutiles pero muy amplias, abarcando distintos niveles como el anatómico, fisiológico y conductual (Morgane *et al.*, 1978; Valadares y Almeida, 2005). Entre éstas se incluyen alteraciones en diversos parámetros celulares y estructurales (Morgane *et al.*, 1978; Morgane *et al.*, 2002; Resnick *et al.*, 1979; DeBassio *et al.*, 1994; Laus *et al.*, 2011; Kar *et al.*, 2008), alteraciones en parámetros, actividad y conectividad en circuitos neuronales (Morgane *et al.*, 1978; Díaz-Cintra *et al.*, 1991; Resnick *et al.*, 1979; Laus *et al.*, 2011), cambios en el metabolismo (Miñana-Solis y Escobar, 2008; Resnick *et al.*, 1979; Matos *et al.*, 2011; Zamenhof *et al.*, 1991), aberración de eventos regresivos como la muerte celular (Morgane *et al.*, 2002), afectaciones en el ciclo celular (Tonkiss *et al.*, 1993; Soto-Moyano *et al.*, 2005), alteraciones en el equilibrio y desarrollo de neurotransmisores (Díaz-Cintra *et al.*, 1991; Morgane *et al.*, 2002; Resnick *et al.*, 1979; Castañón-Cervantes y Cintra, 2002), incremento de daño oxidativo (Bonatto *et al.*, 2005), retraso en el

desarrollo funcional de los sistemas sensoriales y alteraciones conductuales y cognitivas (Ranade *et al.*, 2008; Resnick *et al.*, 1979; Tonkiss *et al.*, 1991; Cintra *et al.*, 1997). Algunos de estos efectos pueden ser revertidos, pero sólo parcialmente (Kar *et al.*, 2008; Meryem y Wail, 2012; Morgane *et al.*, 1978; Resnick *et al.*, 1979).

De todas estas afectaciones, a nosotros nos interesa de manera particular los efectos en la memoria, por lo que a continuación se abordará este tema.

APRENDIZAJE Y TIPOS DE MEMORIA

La función cognoscitiva abarca procesos de atención, aprendizaje y memoria (De Souza *et al.*, 2011), las cuales requieren un estado de alerta y la habilidad de mantener o cambiar la atención apropiadamente bajo varias situaciones (Chaudhury y Colwell, 2002).

El aprendizaje se define como un cambio conductual, relativamente permanente, como resultado de la práctica o experiencia, que se da como respuesta adaptativa a un estímulo (De Souza *et al.*, 2011).

Por otro lado, la memoria puede definirse como la persistencia de un comportamiento aprendido a lo largo del tiempo (De Souza *et al.*, 2011) que involucra cambios persistentes en las conexiones entre neuronas (SfN, 2008). La memoria no es una función cerebral simple, sino una compleja red de diferentes funciones interrelacionadas que trabajan juntas para manejar información, por lo que debe entenderse como un sistema cuyo propósito es clasificar, codificar, almacenar y recuperar información basada en experiencia relevante al sujeto (Carrillo-Mora *et al.*, 2009).

Existen diversos tipos de memoria y el cerebro parece procesarlas de diferentes maneras, involucrando distintas áreas (De Souza *et al.*, 2011; SfN, 2008). De manera general se puede hacer una clasificación de la memoria de acuerdo a la duración de almacenamiento de ésta (el tiempo entre la adquisición y la recuperación), separándose en memoria a corto y largo plazo (Carrillo-Mora *et al.*, 2009).

La memoria a corto plazo tiene una capacidad limitada en cuanto a la cantidad de información que puede ser almacenada y recuperada y tiene un decaimiento temporal

a corto plazo, usualmente definido entre varios segundos y un minuto e involucra eventos bioquímicos (SfN, 2008), así como cambios en la actividad de proteínas existentes para mediar respuestas sinápticas (Eckel-Mahan *et al.*, 2008) y afectar la fuerza de las sinapsis (SfN, 2008).

Por otro lado, la memoria a largo plazo puede almacenar cantidades de información ilimitadas por una duración de tiempo potencialmente ilimitada (Morellini, 2013). Para su formación se requiere la síntesis de proteínas, así como modificaciones post-traduccionales (SfN, 2008; Eckel-Mahan *et al.*, 2008), por lo que requiere una mayor cantidad de tiempo (Eckel-Mahan *et al.*, 2008). La información almacenada en la memoria a corto plazo puede ser transferida a la memoria a largo plazo por un proceso llamado consolidación (Wang y Morris, 2010), el cual ocurre en un lapso de varias horas (Ji y Wilson, 2007).

Dentro de la memoria a largo plazo se da otra clasificación en varios subtipos, dependiendo del tipo de información almacenada y los procesos cognitivos que subyacen la codificación, identificándose dos tipos mayores de memoria:

- Declarativa o explícita, la cual se refiere a la capacidad de recordar información que es transmitida o expresada (Carrillo-Mora *et al.*, 2009), conscientemente activada e incluye el conocimiento y significado de los hechos. Este tipo de memoria está involucrada en la modelación del mundo externo (Squire, 1998; Milner *et al.*, 1998).
- No declarativa o implícita, el cual es un término que abarca diferentes tipos de memorias no declarativas (Squire, 1998). Estas memorias son procedurales, por lo que representan información requerida para la ejecución de habilidades motoras, cognitivas o perceptuales que no se transmiten oralmente (Carrillo-Mora *et al.*, 2009).

El siguiente esquema (Fig. 5) muestra la clasificación que se tiene acerca de los sistemas de memoria.

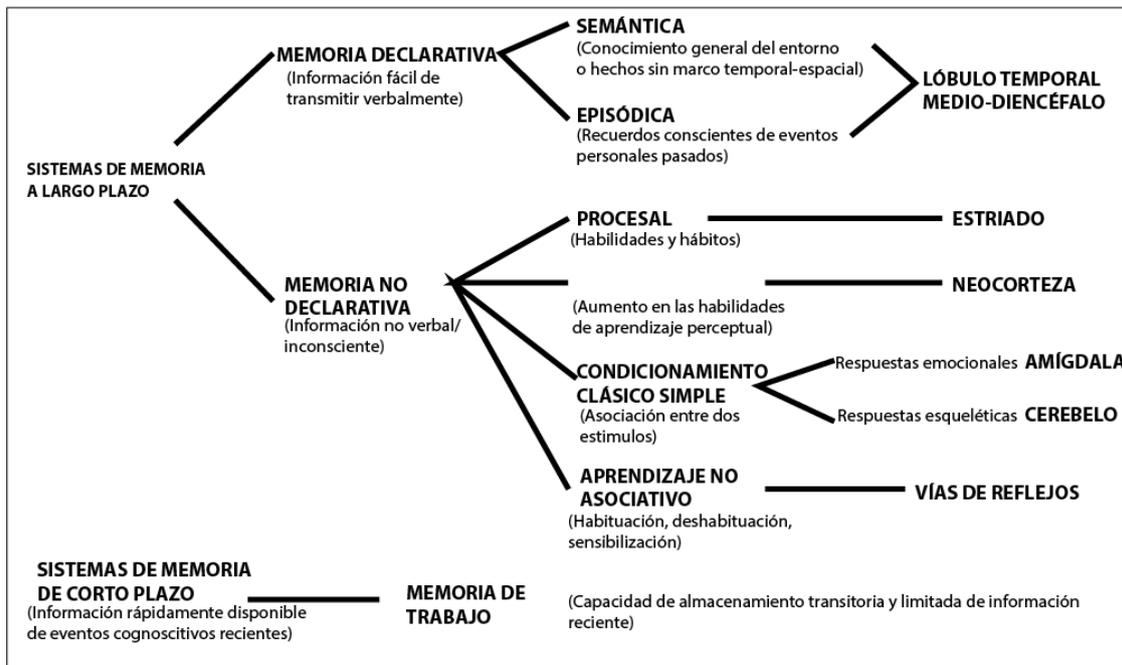


Figura 5. Esquema que muestra la clasificación de los diferentes sistemas de memoria (Imagen tomado y modificada de Carrillo-Mora et al, 2009)

Cabe destacar que estas definiciones implican la cualidad del habla, la cual es inherente al humano (Carrillo-Mora et al., 2009), por lo que es complicado conocer si los animales procesan y almacenan información compleja similar a la memoria declarativa (Tulving, 2002). Se ha propuesto que en animales, una respuesta conductual basada en qué ocurrió, dónde y cómo en base a una experiencia pasada puede ser tomada como una memoria similar a la declarativa (Clayton y Dickinson, 1998) y la memoria espacial propuesta por Olton en 1979 cumple esto; este tipo de memoria es el que nos interesa.

EL HIPOCAMPO Y LA MEMORIA ESPACIAL

La memoria espacial se define como la función cerebral responsable de reconocer, codificar, almacenar y recuperar información relacionada a la locación de objetos físicos o de rutas específicas en el espacio (Morellini, 2013; Carrillo-Mora et al., 2009). Debido a que presenta la habilidad de relacionar señales separadas entre ellas (Buzsáki y Moser, 2013), y a que se ha demostrado que subyacen las mismas estructuras anatómicas que en la memoria declarativa (De Souza et al., 2011), es que se considera

como un subtipo de memoria episódica que almacena información dentro de un marco espacio-temporal (Carrillo-Mora *et al.*, 2009; Morellini, 2013).

Este tipo de memoria se caracteriza porque el animal genera un mapa espacial del contexto en el que se encuentra (mapa cognitivo), relacionando para esto diversas señales externas, con lo cual genera una estrategia de navegación de tipo espacial y puede orientarse hacia un objetivo (D'Hooge y De Deyn, 2001; Carrillo-Mora *et al.*, 2009).

La estructura responsable de procesar y almacenar las relaciones entre estas señales es el hipocampo. (Rueda-Orozco *et al.*, 2006), por lo que se considera la estructura fundamental requerida para el procesamiento cognoscitivo, retención y recuperación de información espacial (Morellini, 2013; Dusek y Eichenbaum, 1997; Carrillo-Mora *et al.*, 2009; Matos *et al.*, 2011).

El hipocampo, junto con el giro dentado y el *subículum*, forman parte de la formación hipocámpica (Redolar, 2011) la cual es un componente esencial del sistema límbico del cerebro. Esta estructura cerebral es bastante conocida en aspectos básicos de anatomía, fisiología y funciones conductuales por lo que se considera una buena región para estudiar funciones corticales mayores (Morgane *et al.*, 2002).

El hipocampo se comunica de manera interna a través de tres vías principales, las cuales al interactuar forman el circuito trisináptico hipocámpico (Rueda-Orozco *et al.*, 2006). Este se basa en una serie de sinapsis secuenciales (vías) que transmiten información en la siguiente dirección principalmente (Fig. 6):

- Vía perforante: corteza entorrinal → células granulares del giro dentado →
- Fibras musgosas: giro dentado → células piramidales del *Cornu Ammonis* (CA) 3-
- Colaterales de Schaffer: CA3 → células piramidales CA1 las cuales, en turno, proyectan de vuelta al área entorrinal (Morgane *et al.*, 2002; Cintra *et al.*, 1997; Rueda-Orozco *et al.*, 2006).

Este circuito, junto con las neuronas de proyección y los circuitos locales de interneuronas, representan el módulo de procesamiento básico en la formación hipocámpica (Morgane *et al.*, 2002).

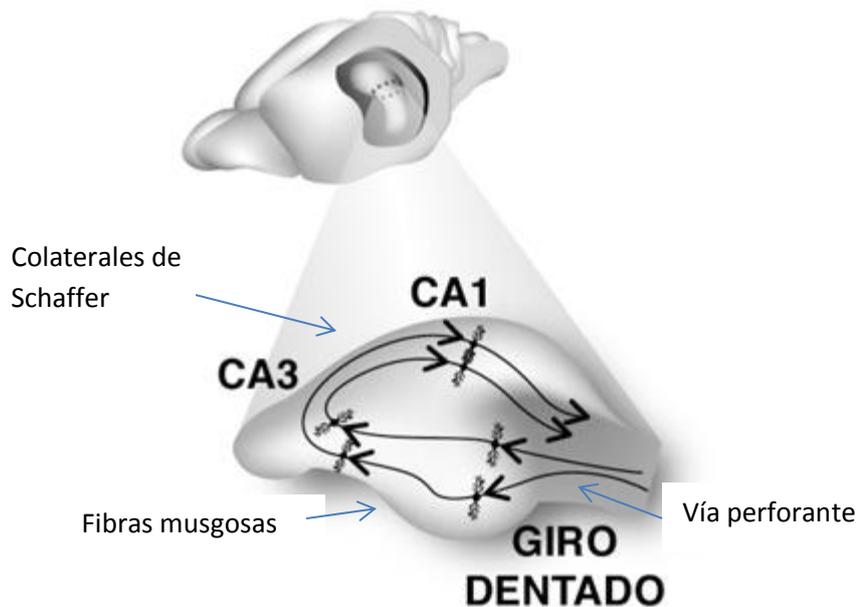


Figura 6. Localización del hipocampo en el cerebro de la rata y ejemplificación del circuito trisináptico hipocámpico (Imagen tomada y modificada de Rueda-Orozco et.al., 2006).

La formación hipocámpica está involucrada en funciones como la atención, aprendizaje y memoria (especialmente de características espaciales) (Morris, 1984; Valadares *et al.*, 2010; Morgane *et al.*, 2002; Miklos, 1993; Fukuda *et al.*, 2007), así como en la navegación. Esto se debe a la presencia de distintas clases de neuronas cuya actividad se relaciona con la orientación y la posición del animal en el espacio (Wills *et al.*, 2014).

Entre las principales podemos encontrar a las células de lugar, las cuales se disparan cada que el animal ocupa una posición específica en su ambiente y por lo tanto codifican la localización actual del animal; las células de dirección de la cabeza (HD, por sus siglas en inglés), las cuales codifican la dirección de la cabeza del animal; las células de red, las cuales disparan en varios lugares del entorno organizadas en una rejilla hexagonal simétrica y que pueden codificar la distancia viajada; y las células de vectores límites, las cuales responden a los límites del ambiente y podrían representar las entradas fundamentales de las células de lugar y de red. Se cree que estas neuronas son la base neuronal de los mapas cognitivos (Wills *et al.*, 2014).

Por otra parte, el aprendizaje y la memoria están atribuidos a cambios en las sinapsis neuronales (SfN, 2008). Durante el proceso de consolidación de la memoria, los estudios en ratas han demostrado que está involucrada una cascada de eventos

celulares y moleculares en los que se involucran síntesis de glicoproteínas (Izquierdo y Medina, 1997) que alteran la eficacia sináptica y la interacción entre el hipocampo y la corteza cerebral (Dudai, 2004).

Durante el proceso de memoria el hipocampo forma parte de tres circuitos relacionados pero diferentes: uno durante la adquisición, otro durante la formación de la memoria, y otro en el momento de la recuperación (Izquierdo y Medina, 1997).

Específicamente, en el proceso de consolidación parece que el hipocampo y la región parahipocámpica juegan un papel crítico (SfN, 2008), cumpliendo la función del involucramiento en la integración y consolidación de la información sensorial separada (De Souza *et al.*, 2011) y realizando una transferencia de memorias hacia la corteza (Ji y Wilson, 2007), la cual parece jugar un rol en términos de almacenamiento a largo plazo de la información (De Souza *et al.*, 2011).

Además de estos procesos, parece que a nivel celular la neurogénesis adulta es un componente crítico que contribuye a la formación del aprendizaje y la memoria (Deng *et al.*, 2010; Matos *et al.*, 2011). Este proceso se da en la formación hipocámpica, junto con la zona subventricular de los ventrículos laterales (Hastings y Gould, 1999) y se cree que de manera particular, la neurogénesis en el giro dentado del hipocampo participa de manera importante en los procesos de aprendizaje y la memoria (Matos *et al.*, 2011).

LA MALNUTRICIÓN, EL HIPOCAMPO Y LA MEMORIA ESPACIAL

Como se mencionó anteriormente, la MN durante el desarrollo del organismo afecta un gran número de procesos, los cuales tienen efectos a largo plazo que conllevan a deficiencias permanentes, tanto en procesos cognoscitivos, como en el comportamiento (Morgane *et al.*, 2002).

Las afectaciones por MN producen cambios neurofisiológicos, neuroquímicos y neuroanatómicos en la estructura y función de la formación hipocámpica (Tonkiss *et al.*, 1991; Tonkiss *et al.*, 1994; Cintra *et al.*, 1997; Valadares y Almeida, 2005); como son volumen hipocámpico reducido (Ranade *et al.*, 2008), alteración en el tiempo de desarrollo del giro dentado (Debassio *et al.*, 1994, 1996), alteraciones morfológicas y

pérdida de neuronas y sinapsis (Lister *et al.*, 2005; Bonatto *et al.*, 2005; Meryem y Weil, 2012; Granados-Rojas *et al.*, 2004), desequilibrio en los neurotransmisores, alteración del flujo y transmisión de información, déficits en la inducción (Morgane *et al.*, 2002; Granados-Rojas *et al.*, 2004; Tonkiss *et al.*, 1993) y mantenimiento de la potenciación a largo plazo (Morgane *et al.*, 2002; Tonkiss *et al.*, 1994; Lister *et al.*, 2005; Soto-Moyano *et al.*, 2005), limitaciones en la plasticidad, afectación en la organización interneuronal (Morgane *et al.*, 2002; Fukuda *et al.*, 2007; Diaz-cintra *et al.*, 2007) y en la consolidación sináptica (Granados-Rojas *et al.*, 2004).

En la siguiente tabla se muestran algunas de las alteraciones encontradas en el hipocampo debido a malnutrición:

Tabla I. Alteraciones en el hipocampo debido a malnutrición hipoproteínica.

Tipo de malnutrición Hipoproteínica	Duración de la malnutrición	Hallazgos	Autores
Dieta 6% caseína	Gestación Gestación y lactancia Lactancia	-No diferencias significativas -Disminución en el sistema de fibras musgosas y en el volumen de referencia total de éste.	Granados-Rojas <i>et al.</i> , 2004
Dieta 6% caseína	Gestación	Menos neuronas en la región CA1, así como disminución en el volumen de la región CA1 y el <i>subiculum</i>	Lister, <i>et al.</i> , 2005
Dieta 8% caseína	Gestación	Incremento en la concentración y liberación de noradrenalina cortical durante la vida postnatal temprana	Soto-Moyano <i>et al.</i> , 2005
Restricción de alimento al 50%	Gestación y lactancia Lactancia	-Déficit en la proliferación celular y en la supervivencia celular en el hipocampo. -No diferencias significativas después de 3 semanas.	Matos <i>et al.</i> , 2011
Dieta 6% caseína	Gestación	-Déficit en la densidad de espinas de las dendritas de las células piramidales del estrato molecular y aumento en la densidad de espinas en las dendritas de las células piramidales en el estrato radiado (30d) y déficit en el día 90 y 220.	Cintra <i>et al.</i> , 1997
Dieta 6% caseína	Desde Gestación hasta los 49d de edad	Alteraciones duraderas en el sistema colinérgico hipocámpico	Fukuda <i>et al.</i> , 2007
Dieta 6% caseína	Gestación	Alteración en la habilidad de modificar la frecuencia del ritmo theta hipocámpico para que coincida con los requisitos de un estado particular de atención. Aumento en la magnitud y duración de la inhibición mediada interneuralmente de la excitabilidad de las células granulares.	Tonkiss <i>et al.</i> , 1993
Dieta 8% caseína	Gestación y lactancia	Mayor poder en la banda theta (EEG), especialmente durante los estados desincronizados de vigilia y REM. Aumento en la concentración en 5-HT y 5-HIAA en el cerebro.	Resnick <i>et al.</i> , 1979

Camadas grandes (20-22 crías)	Lactancia	Pérdida de células hipocámpicas y disminución en el nivel de fosforilación de CREB en CA1.	Huang <i>et al.</i> , 2003
Dieta 6% caseína	Gestación	Disminución en la neurogénesis de las células granulares del giro dentado (d8), prolongación del ciclo celular. Aumento de células granulares en el d30.	De Bassio, <i>et al.</i> , 1996
Dieta 7% caseína	Gestación y lactancia	-Reducción del 60% en el volumen del giro dentado, 66% menos volumen en la región CA1 y reducción del 38% en la región CA3.	Ranade <i>et al.</i> , 2008.
Dieta 7% caseína	Gestación y lactancia	Astroglíosis en la corteza cerebral e hipocampo	Feoli <i>et al.</i> , 2008
Dieta 8% caseína	- 2-10 meses de edad - 2-8 meses de edad(seguido de 2 meses de rehabilitación)	-Pérdida del 30% de sinapsis entre fibras musgosas y las dendritas de las células piramidales de CA3, esto se revirtió en las rehabilitadas. -Reducción del 20% en el número total de células granulares, 25% de las neuronas piramidales CA3 y 30% en el número total de células piramidales de CA1.	Lukoyanov y Andrade, 2000.
Dieta 6% caseína	Gestación	Disminución en la capacidad de adquirir y mantener el potencial postsináptico excitatorio (componente de LTP) en el giro dentado.	Austin <i>et al.</i> , 1986
Dieta 6% caseína	Gestación	Cambios localizados en el sistema aferente de 5-HT en la formación hipocámpica: Disminución de la densidad de fibras de 5-HT en el giro dentado y CA3. Disminución de 15-25% en los sitios de captación de 5-HT en CA3 y CA1.	Blatt <i>et al.</i> , 1994.
Dieta 6% caseína	Gestación Gestación y Lactancia Lactancia	El inicio de la muerte celular se retrasa en las interneuronas GAD-67 en el giro dentado y afectación diferencia del desarrollo de las interneuronas GAD-67 a lo largo del hipocampo dorsal.	Díaz-Cintra <i>et al.</i> , 2007

Se cree que todas estas afectaciones mencionadas pueden estar relacionadas con los déficits conductuales y disfunciones en el aprendizaje y la memoria espacial que se han observado (Valadares y Almeida, 2005; Morgane *et al.*, 2002; Lister *et al.*, 2005; Laus *et al.*, 2011), debido al involucramiento de ésta estructura en estas funciones (Morris, 1984).

Sin embargo este tema es controversial, ya que las evaluaciones conductuales en tareas de aprendizaje y memoria muestran resultados muy variados, como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla II . Afectaciones de la malnutrición Hipoproteínica sobre procesos de aprendizaje y memoria.

Período de malnutrición	Tipo de estudio	Hallazgo	Autores
Gestación hasta 49d de edad (6% caseína)	- Memoria de trabajo (LAM) - - Memoria de reconocimiento de objetos - Memoria de trabajo en laberinto acuático en T	- Mayor latencia de escape - Menor índice de reconocimiento - No diferencias significativas	Valadares <i>et al.</i> , 2010
Gestación (6% caseína)	- Pruebas de referencias proximales (LAM) - Pruebas de referencias distales (LAM)	- No diferencias significativas - No diferencias significativas	Tonkiss <i>et al.</i> , 1994
Gestación y lactancia (7% caseína)	Memoria espacial (laberinto de ocho brazos radiales)	Mayor número de errores en la memoria de referencia y de trabajo	Ranade <i>et al.</i> , 2008
Lactancia (6% caseína)	Aprendizaje y memoria espacial: LAM 1ensayo/día (ensayos espaciados) LAM 4,8,12 ensayos/días (densidad intermedia) LAM 24ensayos/día (ensayos condensados)	-Mayor latencia de escape y mayor tiempo para encontrar plataforma en la prueba --No diferencias significativas	Valadares y Almeida, 2005.
Nacimiento hasta 50d de edad	LAM	Problemas de aprendizaje con señales distales pero no con señales proximales	Fukuda <i>et al.</i> , 2002
2d hasta los 17d de edad (privación de leche 12h al día)	LAM: - Referencias proximales - Referencias distales	-No diferencias significativas. -Retardo en el desarrollo de la navegación distal	Castro y Rudy, 1987.
Gestación (6% caseína)	LAM Referencias distales	Mayores distancias de nado, no diferencias en las pruebas	Tonkiss <i>et al.</i> , 1997
8% caseína: 2-8 meses de edad (rehabilitados) 2-10 meses de edad	LAM	-Crónicas: Más tiempo nadando a lo largo de la pared del laberinto, menos cruces por el sitio de la plataforma durante la prueba (déficits de retención). -Rehabilitadas: No diferencias significativas	Lukoyanov y Andrade, 2000.
Nacimiento a 49d de edad (6% caseína)	LAM con un tratamiento de escopolamina: -Sin tratamiento -Tratamiento antes de los entrenamientos -Tratamiento después de los entrenamientos	-Peor desempeño en entrenamientos, no diferencias en pruebas -Con dosis mayor los MN tuvieron mejor desempeño -Mejor desempeño Menor efecto a la escopolamina, sugiriendo cambios en el sistema colinérgico	Fukuda <i>et al.</i> , 2007

Los diferentes estudios parecen indicar que éstas afectaciones pueden ser dependientes de la edad (Meryem y Wail, 2012; Tonkiss *et al.*, 1994), el tipo de tarea (Kar *et al.*, 2008; Morgane *et al.*, 1978; Valadares *et al.*, 2010; Cimadevilla *et al.*, 2004), el sexo (Kar *et al.*, 2008; Cimadevilla *et al.*, 2004), el momento y la severidad del insulto (Meryem y Wail, 2012), o la fase del proceso que se analice (aprendizaje, memoria a corto plazo, readquisición, etc.), afectando de manera distinta a cada una de ellas (Morgane *et al.*, 1978; Matos *et al.*, 2011); sugiriendo una afectación en diferentes grados a las diferentes funciones neuropsicológicas (Kar *et al.*, 2008). Además, parece ser que la hora del día en que se estudien (Eckel-Mahan y Storm, 2009), así como el tipo de aparato y el protocolo utilizado puede influir en los resultados (Valadares *et al.*, 2010; Cimadevilla *et al.*, 2004), y parece ser posible que en algunas pruebas ciertas alteraciones puedan ser revertidas después de una recuperación nutricional (Valadares *et al.*, 2010).

Ya que la hora del día parece afectar el desempeño de las tareas cognitivas, se sugiere que los procesos de memoria y aprendizaje están sujetos a una modulación circadiana, lo que provoca diferencias en el desempeño dependiendo de la fase (Eckel-Mahan y Storm, 2009). De ser así, los efectos de la MN sobre el sistema circadiano podrían explicar las diferencias conductuales y cognitivas que se han reportado (Castañón-Cervantes y Cintra, 2002).

Por lo tanto, es necesario conocer cómo se generan los ritmos circadianos en los mamíferos, lo cual se explicara a continuación.

RITMOS CIRCADIANOS

Los ritmos biológicos se definen como toda oscilación, regular en el tiempo, de una variable biológica, y se caracterizan por los siguientes parámetros: periodo o frecuencia, amplitud, mesor y fase (Fig. 7). Estos ritmos suelen clasificarse por su período en: circadianos (período de aproximadamente 24 horas), ultradianos (período menor de 24 horas) e infradianos (período mayor de 24 horas) (Cardinali *et al.*, 1994).

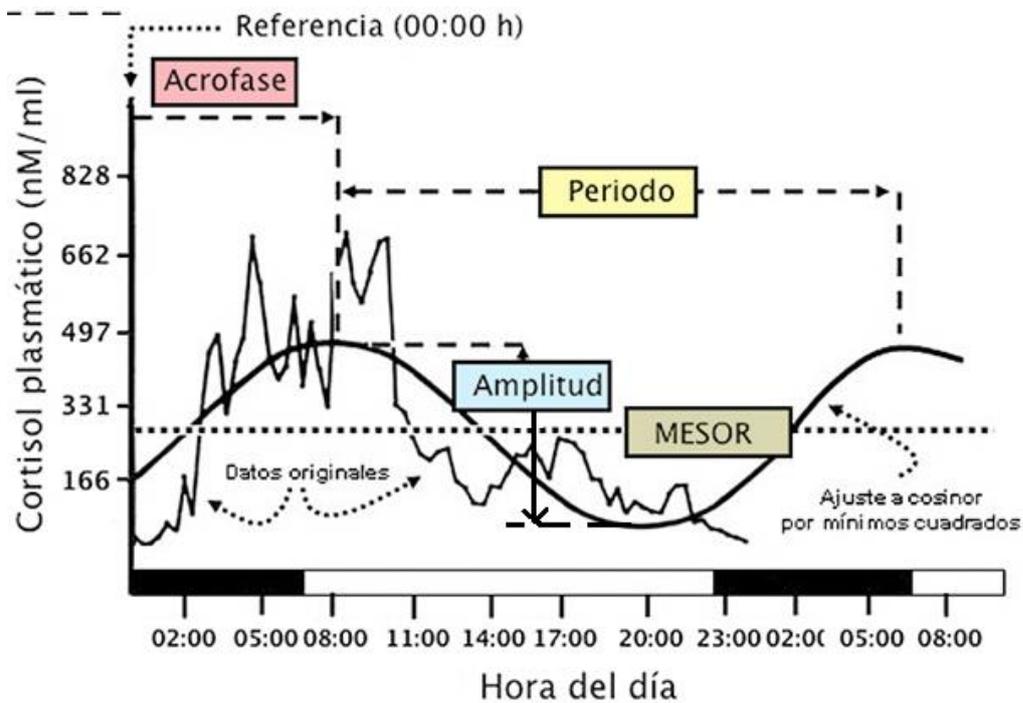


Figura 7. Función cosinoidal resultante del ajuste de datos, sobre la que se indican los parámetros que definen un ritmo biológico: *Periodo* (tiempo comprendido entre dos valores análogos de la variable ajustada); *Mesor* (valor medio de la variable estimada sobre la curva ajustada); *Amplitud* (diferencia entre el valor máximo (cresta) y mínimo de la variable ajustada (valle)); *Fase* (magnitud de la variable en un momento dado). La *acrofase* es el momento en que la variable ajustada alcanza su valor máximo. (Imagen tomada y modificada de ocw.unican.es).

Los ritmos circadianos tienen las características de ser variaciones biológicas endógenas que fluctúan con una periodicidad de aproximadamente 24h, que continúan expresándose a pesar de estar aislados de cualquier estímulo externo (libre corrimiento), además mantienen el periodo a pesar de las diferentes temperaturas fisiológicas y pueden ser sincronizados por señales externas ambientales, como la luz u otros estímulos (Benca *et al.*, 2009; Gritton *et al.*, 2013; Stenvers *et al.*, 2012); éstas señales se conocen como *zeitgebers* o sincronizadores (Dunlap *et al.*, 2004).

En los mamíferos, el reloj maestro circadiano está localizado en el núcleo supraquiasmático hipotalámico (NSQ) (Benca *et al.*, 2009; Gritton *et al.*, 2013; Stenvers *et al.*, 2012), localizado superior al quiasma óptico (Stenvers *et al.*, 2012). Este núcleo es una estructura compleja (10-15,000 neuronas) (Sahar y Sassone-Corsi, 2012), compuesta de una agrupación de osciladores celulares independientes que se acoplan mutuamente por una red de sinapsis. Esta comunicación intercelular es responsable de

la sincronía entre las células (Ruby *et al.*, 2008) que da como resultado una señal de salida sincronizada con los ciclos externos (Sumova *et al.*, 2012).

El NSQ controla múltiples osciladores circadianos periféricos (Christ *et al.*, 2012; Stenvers *et al.*, 2012) que se localizan en otras estructuras neurales, en células de tejidos y órganos periféricos (Sumova *et al.*, 2012), así como oscilaciones circadianas de la mayoría de los procesos fisiológicos (endócrinos, metabólicos y conductuales) (Durán *et al.*, 2005; Ruby *et al.*, 2008), generando así diversos ritmos (Morgane *et al.*, 1978) como los del ciclo celular, temperatura corporal, metabolismo, alimentación, ciclo sueño-vigilia, entre otros (Gerstner y Yin, 2010).

La regulación de los ritmos se da a través de una función orquestada de la maquinaria molecular conocida como el reloj molecular (Sahar y Sassone-Corsi, 2012), la cual consiste en asas de retroalimentación transcripcional/traduccionales autorreguladas de los genes reloj (Christ *et al.*, 2012; Sahar y Sassone-Corsi, 2012), las cuales regulan la salida de los ritmos a través del SNC y la periferia (Benca *et al.*, 2009; Stenvers *et al.*, 2012) por medio de vías parácrinas, neuronales y neuroendócrinas (Christ *et al.*, 2012).

En los mamíferos, el principal sincronizador o zeitgeber es la luz, y ésta sincronización se lleva a cabo por neuronas que se proyectan del ojo a través del tracto retinohipotalámico y llegan al NSQ (Eckel-Mahan y Storm, 2009).

En el roedor, el NSQ se desarrolla gradualmente, por lo que durante el periodo perinatal los relojes periféricos y central son vulnerables a perturbaciones por condiciones externas (Sumova *et al.*, 2012), como la MN. El desarrollo del NSQ en la rata se da en tres etapas:

- Formación y diferenciación de neuronas, lo cual ocurre en el periodo prenatal. Comienza en el día 14 y continúa hasta el día 17 completándose la neurogénesis el día 18 gestacional.
- Crecimiento y maduración morfológica de neuronas, lo cual ocurre desde el momento de la formación de éstas hasta después del día 10 postnatal.
- Formación de sinapsis. Este proceso ocurre en la etapa tanto prenatal como en la postnatal, teniendo su apogeo entre los días 4 y 10 postnatales (Moore y Bernstein, 1989; Christ *et al.*, 2012).

RITMOS CIRCADIANOS Y MEMORIA

Se ha demostrado que existen ritmos circadianos en la mayoría de las regiones del cerebro (Eckel-Mahan y Storm, 2009) y que existen vías que conectan el NSQ con estructuras límbicas involucradas con el proceso de memoria, como el hipocampo y la amígdala. Además de que existen conexiones indirectas (Gerstner y Yin, 2010), como la innervación a otras estructuras que influyen la función hipocámpica (Ruby *et al.*, 2008; Chaudhury y Colwell, 2002). En el hipocampo se ha encontrado ritmicidad circadiana en las vías centrales para el proceso de consolidación de la memoria, en la expresión genética y en la actividad enzimática (Eckel-Mahan y Storm, 2009).

Además de esto, se ha encontrado que existen variaciones en el aprendizaje (Valentinuzzi *et al.*, 2004) y en la memoria dependiente de hipocampo (Sahar y Sassone-Corsi, 2012; Gerstner, 2012) dependiendo la hora del día y el fotoperíodo (relación de luz y oscuridad en el día) (Benca *et al.*, 2009; Gerstner y Yin, 2010; Eckel-Mahan y Storm, 2009; Ruby *et al.*, 2008). Por otro lado, la pérdida o atenuación de la organización circadiana afecta tareas del aprendizaje espacial y la formación de memorias episódicas, como la adquisición y consolidación (Ruby *et al.*, 2008; Gritton *et al.*, 2013; Zelinski *et al.*, 2014; Devan *et al.*, 2001), así como disminución en la memoria a largo plazo hipocampo dependiente (Eckel-Mahan y Storm, 2009).

Por otro lado, ya se han encontrado ritmos circadianos en ciertas funciones, como son aprendizaje de miedo condicionado contextual (Chaudhury y Colwell, 2002), atención (Duran *et al.*, 2011), plasticidad y excitabilidad sináptica hipocámpica (Chaudhury *et al.*, 2005; Gerstner y Yin, 2010), potenciación a largo plazo en el hipocampo y NSQ (Chaudhury *et al.*, 2005; Eckel-Mahan y Storm, 2009; Sahar y Sassone-Corsi, 2012; Gerstner y Yin, 2010; Gerstner, 2012) y reconocimiento de objetos nuevos (Ruby *et al.*, 2008).

Todas estas evidencias indican que el reloj circadiano está ligado con el aprendizaje y la formación de la memoria, y parecen sugerir que el rol del sistema circadiano va más allá de simplemente proveer organización temporal a la función de la memoria (Ruby *et al.*, 2008), por lo que influyen en más de una manera.

Sin embargo no se sabe en qué grado el reloj central es responsable de dirigir oscilaciones en el circuito de la memoria (Gerstner y Yin, 2010), ya que se cree pudieran ser originadas de manera autónoma por células de la memoria en otras regiones del cerebro, como el hipocampo (Gerstner y Yin, 2010; Sahar y Sassone-Corsi, 2012).

Esto ha generado la idea de que el entrenamiento de la memoria pudiera actuar como un zeitgeber para regiones del cerebro que son responsables para la codificación temporal y el almacenamiento de la memoria (Eckel-Mahan y Storm, 2009), ya que se ha observado que en algunas situaciones los osciladores fuera del NSQ pueden dirigir la sincronización cognitiva, y hay evidencia de que los osciladores no NSQuiasmáticos comúnmente interactúan o compiten con el NSQ para influenciar los ritmos biológicos y conductuales (Gritton *et al.*, 2013).

Por lo tanto, el rol exacto que juega el sistema circadiano en los procesos de formación de memoria, así como los mecanismos por medio de los que influye aún no se esclarecen, ya que los estudios parecen indicar que el sistema circadiano puede no solo influir de diversas maneras, sino que además tiene efectos variados dependiendo de la tarea, la fase y la memoria que se estudie (Gerstner y Yin, 2010; Garren *et al.*, 2013), ejerciendo influencia sólo sobre algunas de ellas. Sin embargo, no es claro si esto refleja diferencias fundamentales del rol del sistema circadiano o una mezcla de diferencias entre métodos, especies (Garren *et al.*, 2013) o incluso cepas de ratas, ya que los resultados son inconsistentes (Cain *et al.*, 2008). A pesar de esto, lo que queda claro es que existe una relación entre el sistema circadiano y los procesos cognoscitivos, razón por la que es importante conocer las afectaciones que la MN causa en el NSQ.

LA MALNUTRICION Y EL NÚCLEO SUPRAQUIASMÁTICO

A pesar de que la generación de la periodicidad circadiana es altamente estable (Durán *et al.*, 2005), se han observado alteraciones duraderas en la arquitectura y organización del sistema circadiano debido a MN proteínica, afectando distintos parámetros de los ritmos (como fase, acrofase, sincronización, amplitud y porcentaje de ritmo) o la

relación (sincronización) entre ellos (Aguilar-Roblero *et al*, 1997; Castañon-Cervantes y Cintra, 2002; Durán *et al.*, 2005; Durán *et al.*, 2008; Duran *et al.*, 2011).

Se han observado afectaciones por MN en los ritmos de alimentación, sueño (en particular de sueño REM) (Morgane *et al.*, 1978; Castañon-Cervantes y Cintra, 2002), temperatura de la corteza cerebral, melatonina (Castañon-Cervantes y Cintra, 2002), actividad locomotriz, temperatura corporal (Durán *et al.*, 2008; Castañon-Cervantes y Cintra, 2002) e ingesta de agua (Aguilar-Roblero *et al*, 1997).

Debido a que la MN durante el desarrollo afecta diversos sistemas químicos y provoca cambios neuronales en el NSQ se cree que las afectaciones a los ritmos pudieran deberse a alteraciones neuroanatómico-fisiológicas, a una oscilación circadiana pobre, a afectaciones en la sincronización a la luz o en la transmisión de ritmicidad de los efectores, y/o en la fuerza de acoplamiento de los osciladores circadianos (Aguilar-Roblero *et al*, 1997; Castañon-Cervantes y Cintra, 2002; Durán *et al.*, 2008).

Esta afectación en el NSQ parece tener una relación con los procesos cognoscitivos, ya que al evaluar el ritmo de atención en ratas malnutridas durante el desarrollo se ha observado una disminución en la amplitud, así como un corrimiento de fase en comparación con el grupo control (Duran *et al.*, 2011).

Además de esto, se ha observado que la MN crónica en adultos puede afectar el ritmo de ingesta de agua, generando una partición en el ritmo, lo que se sugiere podría deberse a una disminución en la fuerza de acoplamiento entre los osciladores del sistema o los dos componentes del NSQ (Aguilar-Roblero *et al*, 1997).

Por todo esto decidió realizarse este estudio en el que se relacionan los aspectos de ritmos circadianos, memoria espacial y MN proteínica perinatal.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La malnutrición es un problema tanto a nivel mundial como nacional. De manera particular nos interesa la malnutrición durante el periodo de desarrollo del SNC (periodo perinatal), debido a que la afectación durante este período produce alteraciones importantes en diversas estructuras cerebrales, las cuales son permanentes y pueden generar afectaciones en diferentes capacidades cognoscitivas del individuo, así como en la expresión de diversos ritmos.

A pesar de que existen numerosos estudios acerca de los efectos que produce la malnutrición sobre las capacidades cognoscitivas del individuo, los resultados no son consistentes. En años recientes se ha propuesto una relación entre la expresión de ritmos circadianos y el desempeño cognoscitivo, razón que podría llegar a explicar algunas de las diferencias que hasta ahora se han reportado.

Tomando en cuenta estos antecedentes, es probable que la MN durante el periodo perinatal afecte no solamente el desempeño en los procesos de memoria y aprendizaje, sino también su distribución temporal diaria, así como la expresión de otros ritmos, en este caso la ingesta de agua. Este tipo de estudios nos permite entender más claramente las afectaciones causadas por la MN en mamíferos en distintos sistemas, así como su relación.

HIPÓTESIS

Se sabe que la malnutrición proteínica perinatal altera el ritmo circadiano de actividad locomotora, así como la eficiencia de aprendizaje de la memoria de trabajo, por lo que se espera que también el ritmo de ingesta de agua y la memoria espacial se vean alterados.

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar la distribución temporal diaria del proceso de aprendizaje y memoria espacial en la rata juvenil así como los efectos que provoca la malnutrición proteínica perinatal sobre éstos.

PARTICULARES

- Determinar si los procesos de memoria espacial presentan un ritmo diario en condiciones normales, y de ser así determinar si la malnutrición proteínica perinatal produce alteraciones en éste.
- Determinar si la malnutrición proteínica perinatal produce alteraciones en la eficiencia de aprendizaje comparado con el grupo control.
- Determinar si la malnutrición proteínica perinatal produce alteraciones en el ritmo circadiano de ingesta de agua.

MÉTODO

OBTENCIÓN DE ANIMALES Y MODELO DE MALNUTRICIÓN

Se utilizaron 40 machos juveniles de rata albina de laboratorio (*Rattus norvegicus*), cepa Sprague-Dawley de 45 a 93 días de edad, los cuales se mantuvieron a una temperatura ambiente (20-24°C).

Para la obtención de las ratas experimentales se utilizó el modelo nutricional descrito por Morgane y colaboradores en 1978, donde se administra una dieta isocalórica normoproteínica de 25% caseína a las ratas control y una dieta isocalórica con contenido proteínico de 6% caseína a las ratas malnutridas.

Para la obtención de crías se formaron dos grupos de ratas hembras nulíparas de la cepa Sprague-Dawley (250-300g) elegidas al azar y tomadas del Bioterio de la Facultad de Ciencias. Un grupo conformó a las madres control y el otro a las madres malnutridas.

Ambos grupos fueron alimentados *ad libitum*, con sus respectivas dietas, desde 2 semanas antes de entrar al protocolo de cruce hasta el fin del período perinatal, asegurando así la malnutrición proteínica aguda de las crías. Es importante notar que las dietas de caseína son adicionadas con L-metionina, ya que carecen de este aminoácido esencial. Ambos grupos estuvieron sometidos a un ciclo LO 12:12 y a una temperatura de entre 20-24°C.

Pasadas las dos semanas de inducción todas las hembras entraron al protocolo de cruce, en donde se introdujo un macho (de condiciones normales y tomado del Bioterio) por cada dos hembras y se dejaron en cruce por un periodo de 3 ciclos estrales (12 días). Durante este periodo el macho tuvo la misma alimentación que la hembra.

Finalizado el periodo de cruce el macho fue retirado y las hembras se separaron en cajas individuales durante todo el periodo de gestación (21 días) y lactancia (21 días). El estado de las hembras se monitoreo diariamente. Al nacer, todas las camadas fueron estandarizadas a un máximo de 10 crías, y se formaron los grupos control (CT) o malnutridos crónicos (MC) (Fig. 8).



Figura 8. Diagrama de obtención de grupos experimentales (Tomado y modificado de Duran et al., 2011).

Pasado el periodo de lactancia (21 días), las crías se destetaron, marcaron y separaron por sexo. A partir de este momento y hasta el final del experimento todos los animales recibieron una dieta regular 25% caseína.

GRUPOS EXPERIMENTALES

Se utilizaron 40 machos divididos en 2 grupos, dependiendo del modelo de nutrición perinatal:

- Grupo Control (CT). Machos descendientes de madres alimentadas con dietas isocalóricas, normoproteínicas, 25% caseína, n=20.
- Grupo Malnutrido Crónico (MC). Machos descendientes de madres alimentadas con dietas isocalóricas, hipoproteínicas, 6% caseína, n=20.

Cada grupo se dividió en 4 subgrupos, dependiendo de la hora del día en que realizaron la prueba conductual (LAM).

- 7hrs. Corresponde a 1 hora después del encendido de las luces (ZT1), n=5.
- 13hrs. Corresponde a 7 horas después del encendido de las luces (ZT7), n=5.
- 19hrs. Corresponde a 13 horas después del encendido de las luces (ZT13), n=5.
- 1hrs. Corresponde a 19 horas después del encendido de las luces (ZT19), n=5.

A los 45 días de edad (dp45) los machos entraron a la fase experimental, en la que se realizaron dos pruebas diferentes. Durante todo el proceso las ratas tuvieron agua y alimento *ad libitum*. Se tomó el peso de todos los animales en el dp55.

RITMO DE INGESTA DE AGUA

Se evaluó este ritmo a 16 ratas elegidas al azar, n=8 CT y n = 8 MC. Este procedimiento se realizó durante todo el experimento (48días) con la finalidad de observar alteraciones en el ritmo provocadas por la malnutrición o la manipulación requerida durante la experiencia conductual, como se ha reportado en otros estudios (Aguilar-Roblero *et al*, 1997).

Para medir este ritmo se utilizaron sensores ópticos de reflexión, contruidos en el laboratorio y colocados en el bebedero del animal a 5mm de la boquilla (Fig. 9). Estos sensores a su vez se conectaron a un sistema de procesamiento de señales que se encontraba conectado a una computadora, la cual a través de un software especializado (Actiview) registró las señales cada 10 minutos para la obtención de actogramas.

Se utilizaron sensores QRD1114; estos sensores contienen un diodo emisor infrarrojo y un fototransistor (receptor) de silicio NPN montados uno al lado del otro. En este tipo de sensores el diodo emite una señal infrarroja de manera constante, la cual se refleja al momento de que la rata se encuentra a una distancia máxima de 1cm del sensor; cuando esto pasa el fototransistor recibe el reflejo de la luz y envía una señal (entrada) al sistema, la cual se interpreta como ingesta de agua. Mientras no haya un acercamiento por parte de la rata a los sensores el sistema no recibe ninguna señal de entrada, lo cual se interpreta como ausencia de ingesta de agua (Fig. 10). Se utilizaron este tipo de sensores por considerarse altamente específicos para nuestros propósitos, ya que para registrarse una señal la distancia entre la rata y el bebedero debe ser de máximo 5mm (1cm al sensor), lo cual sucede básicamente cuando se ingiere agua.

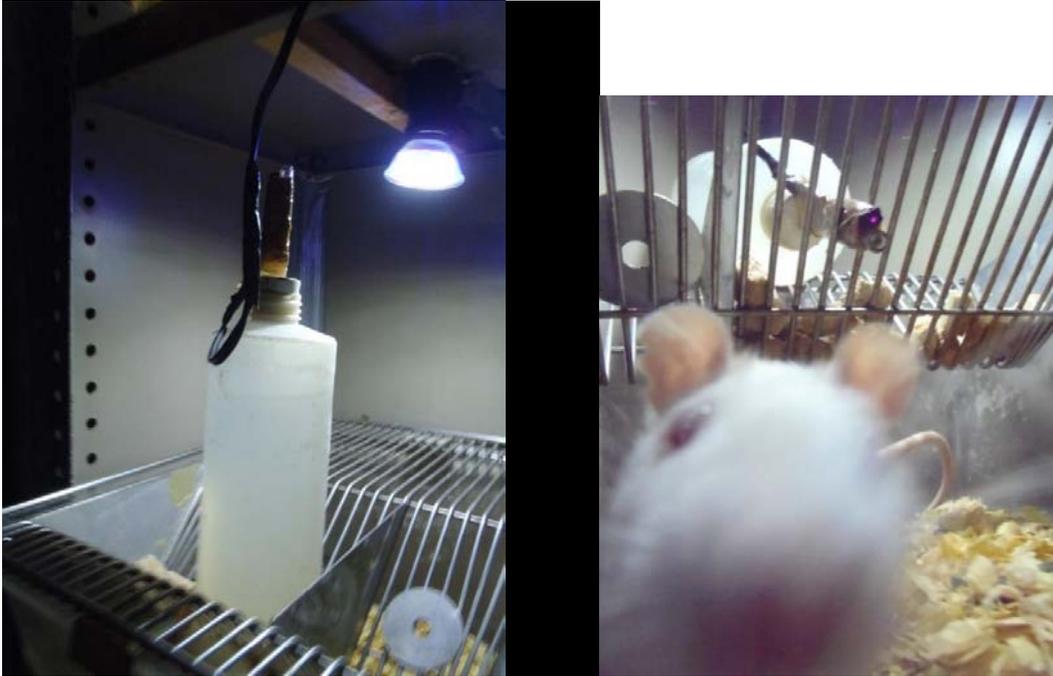


Figura 9. Foto de sensores utilizados para registrar la ingesta de agua.

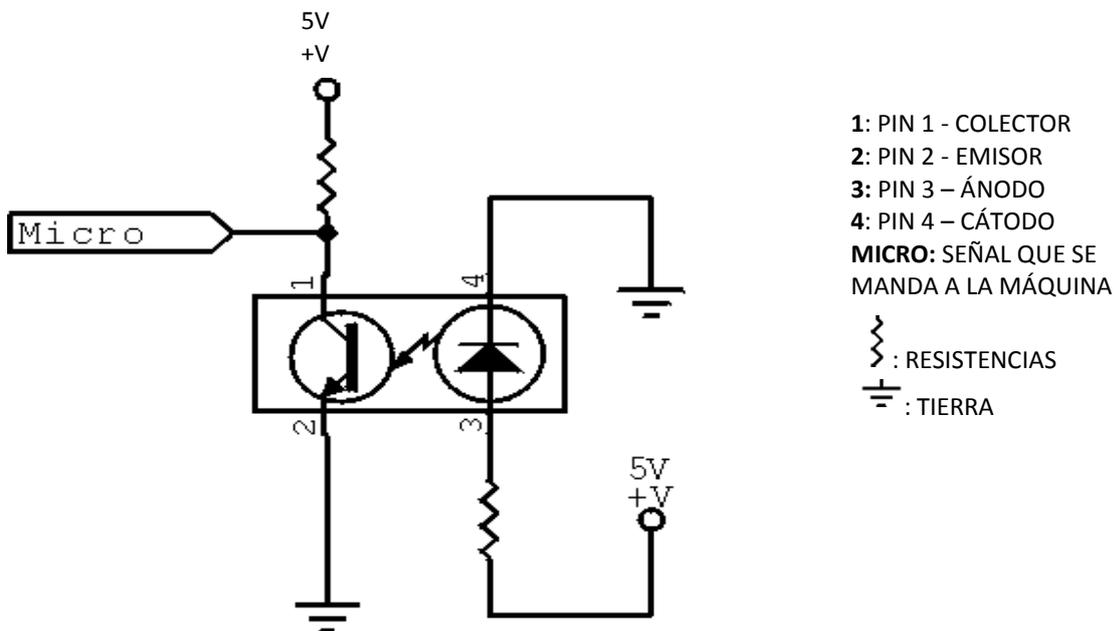


Figura 10. Esquemático del circuito utilizado en los sensores.

El perfil de ingesta de agua se dividió en 3 fases (Fig. 11):

- Fase 1 (Sincronización). Comienza en el dp45 y tuvo una duración de 28 días con un fotoperiodo (L:O) 12:12. Durante esta fase se realizó de manera paralela el análisis conductual de aprendizaje y memoria espacial.
- Fase 2 (Libre corrimiento). Comenzó en el dp73 y tuvo una duración de 10 días. Las ratas se encontraron en un fotoperiodo de obscuridad constante (O:O).

- Fase 3 (Resincronización). Comenzó en el dp 83 y duró 10 días. El fotoperiodo fue L:O 12:12.

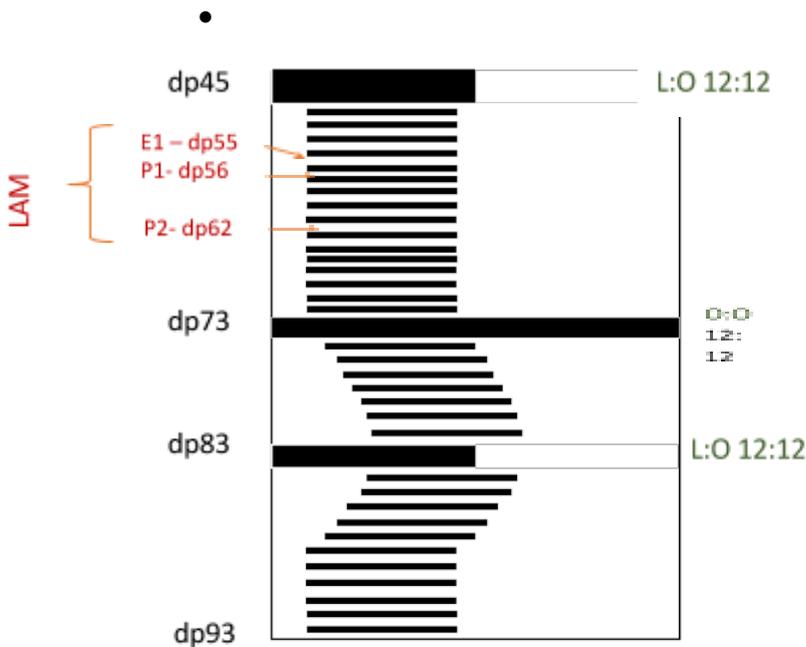


Figura 11. Representación gráfica de los protocolos realizados.

LABERINTO ACUÁTICO DE MORRIS

Uno de los laberintos más utilizados para analizar aprendizaje y memoria espacial en ratas es el laberinto acuático de Morris (LAM), inventado por Richard G. M. Morris en 1981 (Morellini, 2013; Carrillo-Mora *et al.*, 2009; De Souza *et al.*, 2011). Este laberinto fue desarrollado para evaluar la memoria espacial en ratas, ya que explora y estimula el uso de estrategias espaciales basadas en señales visuales del entorno para generar una representación global real del ambiente externo (mapa cognoscitivo), el cual se utiliza para encontrar la solución, en este caso una plataforma (Carrillo-Mora *et al.*, 2009). Para esto, se hace uso de la navegación, la cual se define como la habilidad de desplazarse de un lugar a otro (Morellini, 2013) y que se logra usando distintas estrategias en cuanto al uso de señales: idiotéticas (internas, generadas por el propio movimiento) y alotéticas (externas, basadas en la representación espacial del entorno en base a señales presentes) (Carrillo-Mora *et al.*, 2009; Morellini, 2013). La navegación del tipo alotético juega un rol central en las teorías relacionadas a la memoria espacial como modelo de la memoria declarativa humana (Morellini, 2013), por lo que es la utilizada en este experimento.

Este laberinto presenta ventajas frente a otros aparatos ya que no requiere una recompensa de comida para motivar el comportamiento (Valadares y Almeida, 2005), lo cual es importante ya que se ha observado que en animales MN existe un incremento en la motivación por comida en respuesta a la privación (Laus *et al.*, 2011). Además, debido a que requiere la utilización de estrategias de mapas espaciales, los cuales son dependientes de hipocampo, la ejecución se verá afectada si existe daño hipocampal (Valadares y Almeida, 2005), por lo que este laberinto se considera una herramienta extremadamente sensible a estas afectaciones (Morris, 1984).

Con base en esto, se realizó un perfil de eficiencia de aprendizaje y memoria espacial utilizando el LAM. Esta prueba se realizó en el dp55 (Fig. 11).

Se utilizó una tina pintada de negro, con un diámetro de 90cm y una profundidad suficiente para permitir el nado de las ratas. La tina se dividió en cuatro cuadrantes (1, 2, 3 y 4), cada uno con una marca de referencia en la mitad (A,B,C,D). En el cuadrante 4 se colocó una plataforma negra (P) de 15x15cm (Fig. 12), la cual quedaba invisible al momento de llenar la tina con agua. El agua se mantuvo a una temperatura de entre 20-22°C.

Se colocaron señales visuales en las paredes del cuarto que sirven como referencia a la rata para generar un mapa espacial y orientarse hacia la plataforma (Fig. 13).

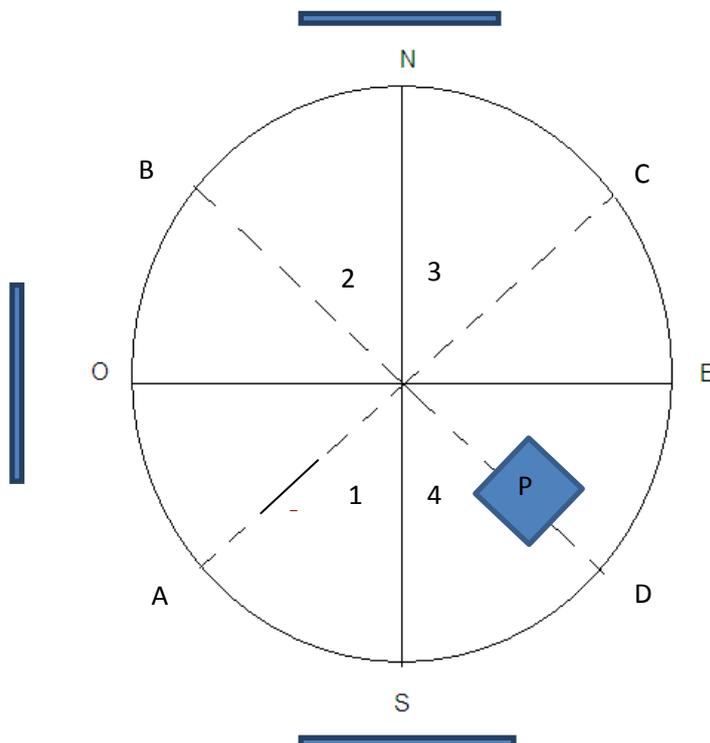


Figura 12. Esquema del Laberinto Acuático de Morris (LAM). En los puntos A, B y C se liberaba al organismo para que encontrara la plataforma.

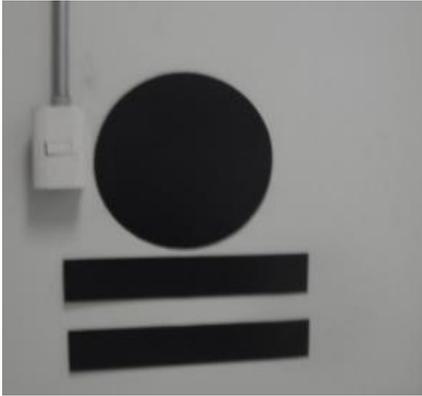


Figura 13. Señales visuales utilizadas en el LAM.

Esta prueba tuvo una duración de 8 días, y se divide en 3 etapas:

- Entrenamientos (Aprendizaje). Se realizó en el dp55 y dp56. En cada uno de los días el animal pasa por 10 entrenamientos con duración de 60 segundos y 30s. de descanso entre cada uno. Antes de iniciar los entrenamientos se da una etapa de habituación en la que se dirige a la rata por una distancia corta hacia la plataforma, sosteniéndola por debajo de las patas delanteras; esto con la intención de disminuir el estrés. Pasado esto comienzan los entrenamientos, seguidos uno de otro. Inicialmente se le dan 30s a la rata en la plataforma para reconocimiento del lugar, pasado esto se transporta al animal hasta uno de los puntos del laberinto (A, B o C) en donde se liberará, siempre con el cuidado de bloquear su campo de visión. El punto de salida en cada uno de los entrenamientos se eligió de manera aleatoria. Una vez liberado el animal se tomó el tiempo que tardó en llegar nadando hasta la plataforma, sino lo logra en el lapso de 60s se le dirigió hasta ella. Al finalizar los entrenamientos las ratas se regresaron a sus cajas y se dejaron descansar por un período de 24 horas. Al dp56 se repiten los 10 entrenamientos.
- Prueba1 (Memoria a corto plazo). Se realizó en el dp56 posterior a los entrenamientos. Tiene una duración de 90 segundos. Los primeros 30s se deja a la rata en la plataforma y posteriormente se dirige al animal, bloqueando su campo de visión, a uno de los puntos A, B o C; antes de liberarlo se retira la

plataforma sin que el animal se percate. Una vez liberado se toma el tiempo que la rata pasa nadando en el cuadrante donde se encontraba la plataforma (cuadrante 4). Al finalizar la prueba la rata se retira del laberinto y se regresa a su caja.

- Prueba2 (Memoria a largo plazo). Se realiza en el dp62 y dura 90 segundos. Se le dan 30s a la rata sobre la plataforma para que reconozca el cuarto. Al igual que en la prueba anterior se libera a la rata de un punto elegido al azar y se mide el tiempo que pasa nadando en el cuadrante donde se encontraba la plataforma (cuadrante4).

Esta prueba se realizó a lo largo del día en cuatro diferentes puntos temporales (ZT1, ZT7, ZT13 y ZT19). Cada subgrupo, se probó en un punto del día diferente para obtener el ritmo diario de memoria espacial (n=5 en todos los subgrupos, los animales en cada subgrupo fueron de diferentes camadas).

En las pruebas conductuales que se realizaron en la fase inactiva de la rata se tuvo la precaución de utilizar una luz roja para evitar la afectación de la sincronización del ritmo de la rata a la luz natural.

Se utilizó el sistema de registro ANY-MAZE (Stoelting CO, USA) el cual permitió grabar todo el procedimiento conductual.

Al finalizar este procedimiento se continuó con el protocolo de ingesta de agua que se explicó anteriormente. Finalmente, al dp93 la rata terminó la fase experimental.

ANÁLISIS DE DATOS

El ritmo de ingesta de agua se analizó utilizando el programa Actiview, se examinó la fase y el periodo del ritmo en los diferentes fotoperiodos.

Para el LAM se utilizó el programa ANY-MAZE el cual permitió obtener los datos de latencia de escape, velocidad de nado, distancia recorrida y tiempo en el cuadrante4.

Los datos se analizaron con el programa Statistica. Se realizaron pruebas t de Student y de ANOVA de medidas repetidas (dependiendo el caso), así como la prueba post-hoc Fisher LSD. Para determinar si se encontraban diferencias significativas la p utilizada en todas las pruebas estadísticas fue $p < 0.05$. Las gráficas se realizaron con el programa Sigma Plot.

Para el análisis de ritmo de memoria espacial se utilizó el programa Chronos Fit, utilizando la prueba estadística de COSINOR, la cual se utiliza para analizar ritmos sin frecuencias marcadas. Esta prueba realiza ajustes por medio de senos y cosenos para calcular la acrofase, mesor y amplitud de la señal sinusoidal obtenida. Se considera que existe ritmicidad si estadísticamente el valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

La media de peso del grupo control fue de $203.545 \pm 10.8g$ y la del grupo malnutrido de $171.425 \pm 10g$ al momento de entrar al protocolo de LAM. La diferencia de casi 20% entre grupos es estadísticamente significativa ($T=2.17$, $GL= 38$, $p=0.03$).

COMPARACIÓN DE PESO

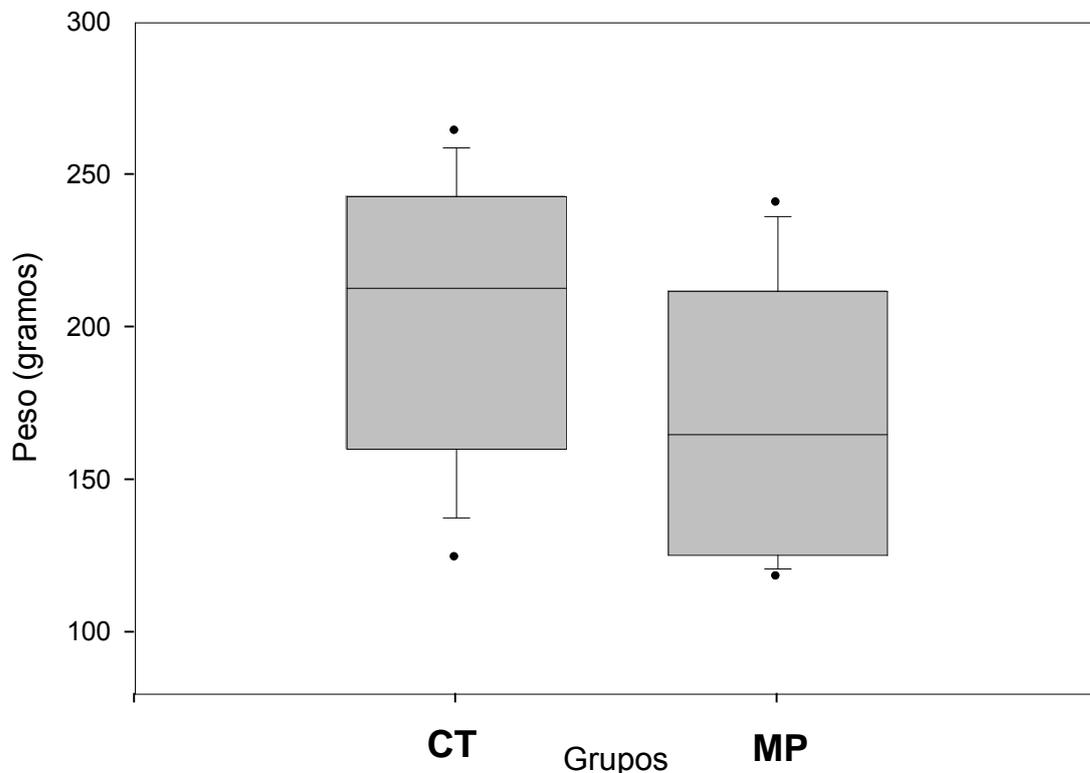


Figura 14. Gráfica de comparación de pesos entre el grupo CT y MC al momento de entrar al LAM (dp55).

RITMO DE INGESTA DE AGUA

Los actogramas del ritmo de ingesta de agua fueron obtenidos con el programa Actiview y posteriormente se analizaron sus características circadianas con el programa Chronos-Fit.

Los datos obtenidos mostraron que el grupo CT presentó una mayor frecuencia de ingesta de agua que el grupo MC, cabe destacar que estos datos son de frecuencia y no de cantidad.

Se analizó el periodo del ritmo de ingesta de agua durante los ciclos L:O, así como el tiempo de resincronización una vez concluido el ciclo O:O. Se realizaron pruebas t de Student para comparar los datos obtenidos, los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla III . Comparación del periodo del ritmo de ingesta de agua en las diferentes fases. En rojo los valores de P significativos ($p < 0.05$).

COMPARACIÓN ENTRE CT Y MC	Periodo del ritmo de ingesta de agua en L:D antes de entrar a O:O	Periodo del ritmo de ingesta de agua en L:D después de entrar a O:O	Tiempo (horas) que tardaron los animales en resincronizarse después de O:O
Valor de T	1.5554	0.4006	-2.4007
Valor de P	0.1638	0.7006	0.0474
Grados de libertad	7.0000	7.0000	7.0000

Los grupos no muestran diferencias significativas en el periodo del ritmo de ingesta de agua al encontrarse en un régimen L:O, presentando un ritmo muy cercano a 24h y sincronizándose bien a los estímulos luminosos.

En ambos grupos se observa un libre corrimiento al momento de entrar a O:O y al terminar este régimen de luz se da una buena resincronización al régimen L:O. Sin embargo, sí se encontró una diferencia significativa en el tiempo de resincronización, siendo más veloces los animales CT por aproximadamente un día.

Finalmente, en los actogramas no se observan variaciones en el ritmo provocadas por la manipulación conductual a la que los animales fueron sometidos debido al LAM.

Algunos actogramas presentan ruido en las gráficas debido a problemas técnicos con los sensores, pero estos fueron reparados rápidamente por lo que las mediciones pudieron continuar sin representar problemas para el estudio.

Con los datos obtenidos en los actogramas se realizó un análisis de la relación alfa/ro (actividad/reposo) durante las horas de luz (12hrs), de oscuridad (12hrs) y del día completo (24hrs) para descartar alteraciones de las fases. Los resultados se muestran a continuación:

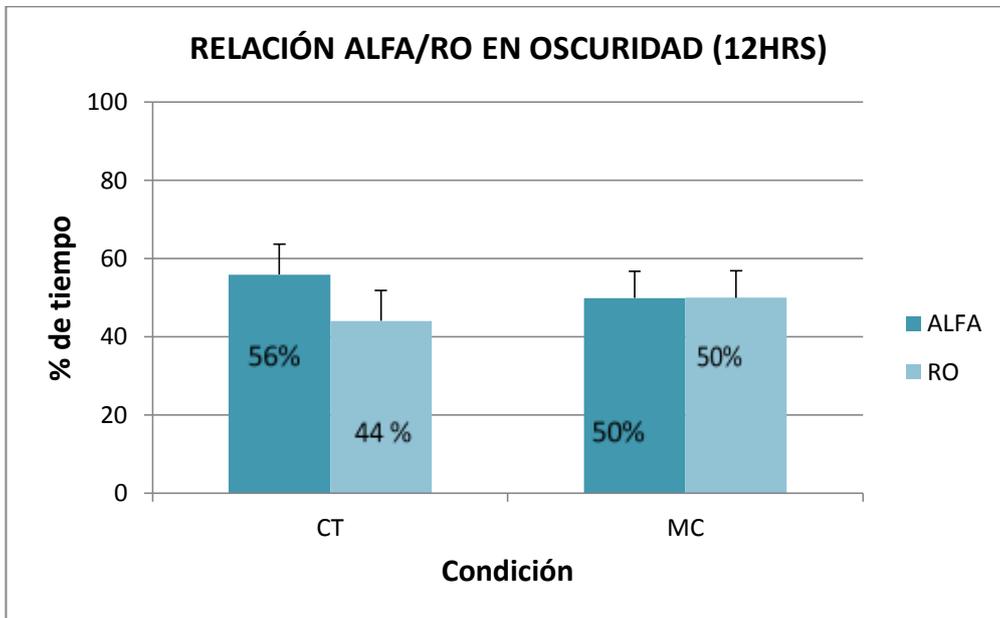


Figura 15. Gráfica que representa las horas de oscuridad durante el periodo L:O (12h). En azul fuerte las horas que los animales pasan en actividad (alfa) y en azul claro en reposo (ro)(media±dem). Actividad se refiere al tiempo que los animales pasan ingiriendo agua.

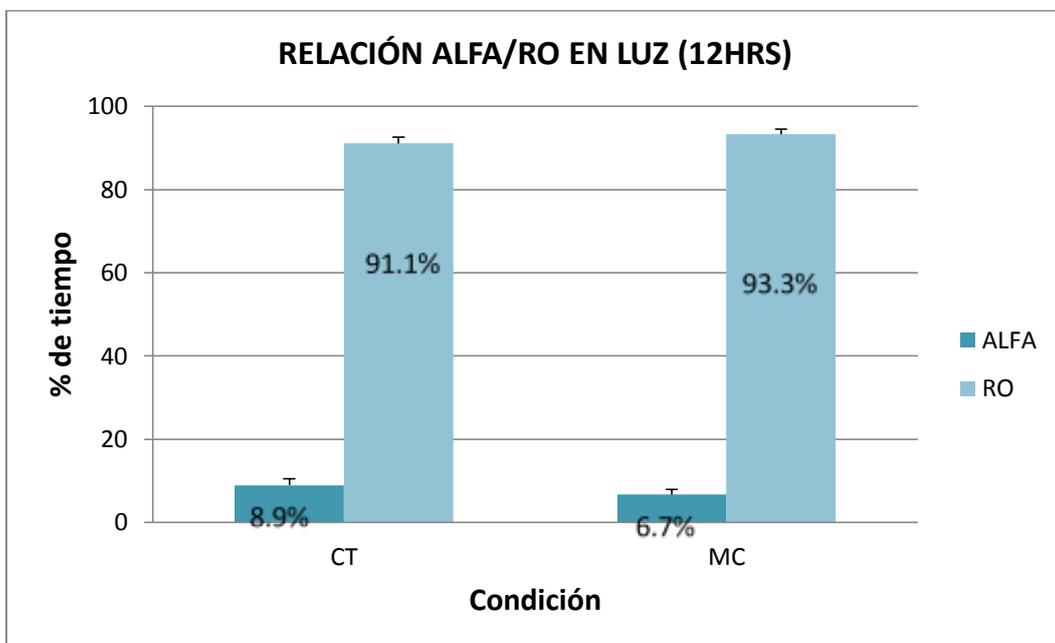


Figura 16. Gráfica que representa las horas de luz durante el periodo L:O (12h). En azul fuerte las horas que los animales pasan en actividad (alfa) y en azul claro en reposo (ro) (media±dem). Actividad se refiere al tiempo que los animales pasan ingiriendo agua.

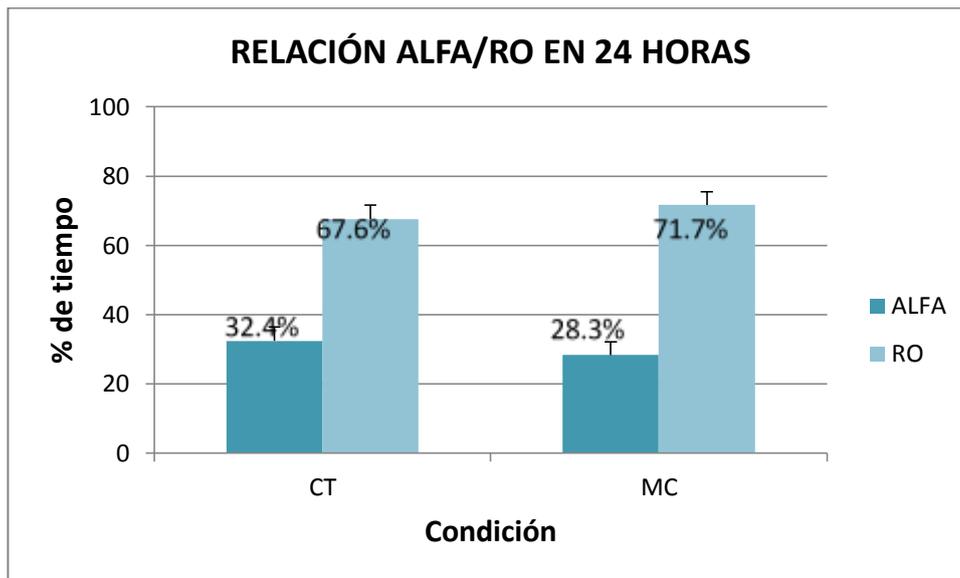


Figura 17. Gráfica que representa las 24 horas del día durante el periodo L:O. En azul fuerte las horas que los animales pasan en actividad (alfa) y en azul claro en reposo (ro)(media±dem). Actividad se refiere al tiempo que los animales pasan ingiriendo agua.

Al analizar el tiempo pasado en actividad (alfa) y reposo (ro) en cada una de las fases (12hrs) y a lo largo del día (24 hrs) se observan algunas diferencias entre grupos, aunque no llegan a ser significativas ($p>0.05$).

En todas las fases (oscuridad, luz y día completo) los animales CT pasan más tiempo en actividad que los MC.

La fase de oscuridad es la única en la que se observa más actividad que reposo, para el grupo CT, y la misma actividad que reposo para el grupo MP. En la fase de luz, como en el análisis de las 24hrs, ambos grupos pasan más tiempo en reposo.

Es importante mencionar que en este caso actividad y reposo se refieren al tiempo de ingesta de agua, y no a la relación sueño-vigilia. Por lo tanto, podría haber momentos durante el reposo en que los animales estuvieran activos, pero sin tomar agua; situación que no se registra en los actogramas.

LABERINTO ACUÁTICO DE MORRIS

EVALUACIÓN DEL APRENDIZAJE

Se obtuvo el tiempo de latencia de escape, eficiencia de aprendizaje y velocidad de nado de cada entrenamiento (media \pm esm) por subgrupo y por día. Se realizó un análisis post-hoc (Fisher's LSD, $p=0.05$) y se encontraron varios puntos con diferencias significativas entre grupos, horas y día.

Latencia de escape

De manera general ambos grupos mostraron un proceso de aprendizaje normal; en donde la latencia de escape disminuye con el paso de los entrenamientos. Esto refleja el aprendizaje de la tarea, por lo que la plataforma se encuentra más rápidamente.

El grupo CT muestra una curva de aprendizaje con una pendiente más uniforme (con menos variaciones a lo largo de los entrenamientos), a diferencia de los MC, en donde hay mayor variación.

El grupo CT muestra menor dispersión en sus datos en comparación con los MC.

En el primer día de entrenamientos se observa que las 7am y 1am (ZT1 y ZT19) son las horas del día en que el grupo CT aprende más rápidamente la tarea, mientras que a las 7pm (ZT13) se observan las mayores latencias de escape y una alta dispersión en los puntos.

Tanto a la 1pm (ZT7), como a las 7pm, la dispersión del grupo CT es bastante alta en todos los entrenamientos; mientras que a la 1am y 7am la dispersión disminuye conforme avanzan los entrenamientos.

A todas horas los animales CT muestran una diferencia significativa entre el tiempo de latencia del primer ensayo y el tiempo de latencia de los últimos ensayos, lo que es indicativo de que la tarea se está aprendiendo. Lo mismo sucede con los animales MC, a excepción de las 7pm, en donde a lo largo de todos los entrenamientos el tiempo de latencia es muy similar.

LATENCIA DE ESCAPE DÍA 1

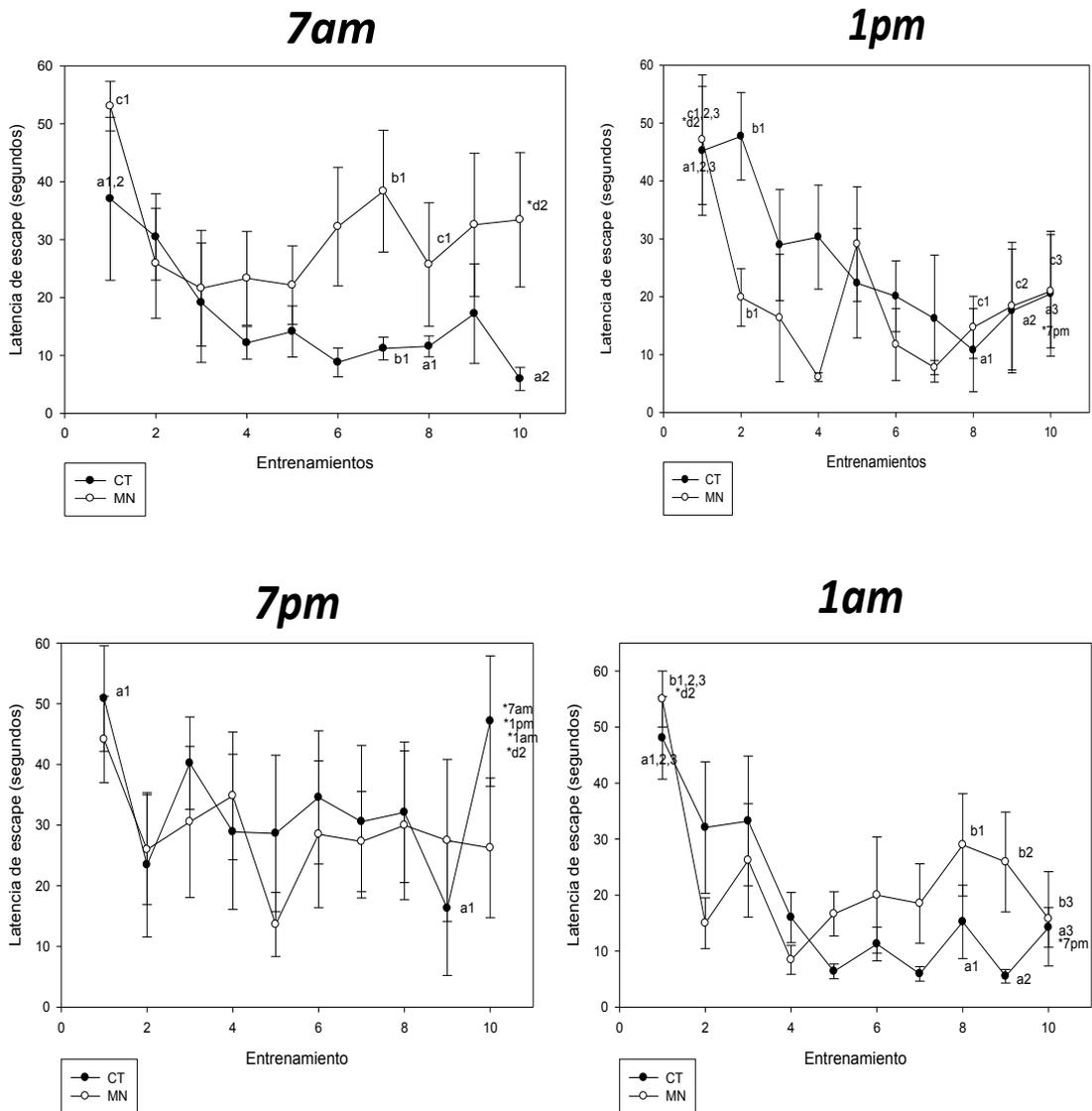


FIGURA 18. Latencia de escape día 1 (media±esm). Gráficas a distintas horas del día1 (D1) del tiempo que tardaron (CT y MC) en encontrar la plataforma a lo largo de 10 entrenamientos. Con asterisco los puntos con diferencias significativas tanto a la misma hora y día, como entre horas y días. Se marcaron con la misma letra los puntos en los que se encontraron diferencias significativas en el mismo día y hora; *d2 indica que en ese entrenamiento, a la misma hora pero del día 2 se encontraron dif. Significativas; *7am,1pm,1am,7am indican que en ese entrenamiento el mismo día, pero diferente hora muestra dif. Significativas.

Los MC muestran un mejor desempeño a la 1pm que el grupo CT, exceptuando un punto que se dispara. Su peor hora del día fue las 7am, con tiempos muy por encima del grupo CT en todos los entrenamientos. A diferencia del grupo CT, el grupo MC muestra una dispersión bastante alta a todas horas.

Es de notar que en la mayoría de las horas, ambos grupos, muestran un incremento de tiempo (latencia de escape) en los últimos entrenamientos.

LATENCIA DE ESCAPE DÍA 2

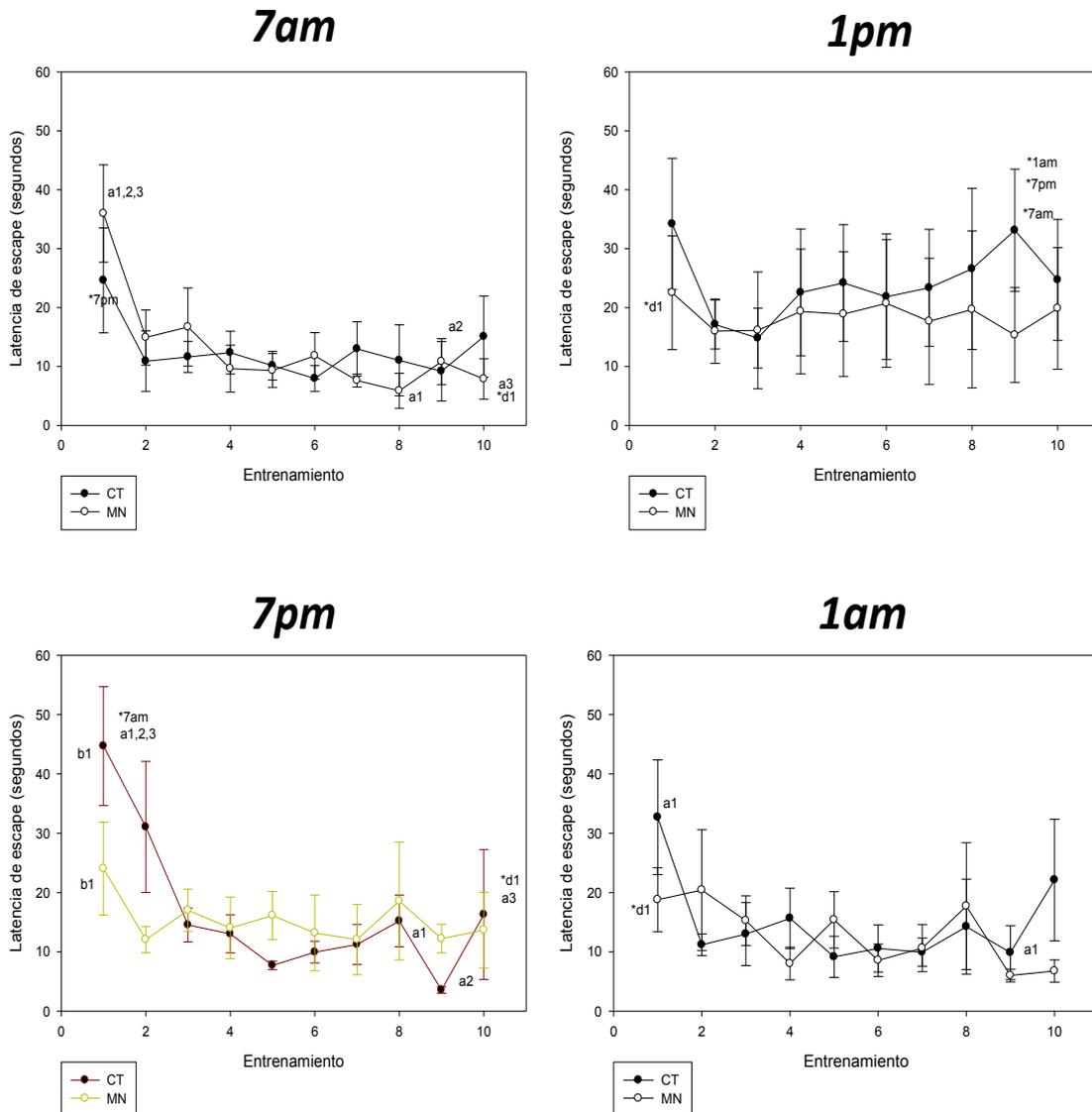


FIGURA 19. Latencia de escape día 2 (media±esm). Gráficas a distintas horas del día2 (D2) del tiempo que tardaron (CT y MC) en encontrar la plataforma a lo largo de 10 entrenamientos. Con asterisco los puntos en donde se encontraron diferencias significativas tanto a la misma hora y día, como entre horas y días. Se marcaron con la misma letra los puntos en los que se encontraron diferencias significativas en el mismo día y hora; *d1 indica que en ese entrenamiento, a la misma hora pero del día1 se encontraron dif. Significativas; *7am,1pm,1am,7am indican que en ese entrenamiento el mismo día, pero a diferente hora se encontró dif. significativa.

Se observa que todos los animales tuvieron un mejor desempeño que el día anterior, sin importar la hora; lo cual refleja el hecho de que la tarea se está aprendiendo de manera correcta.

Las 7am es la hora en que se desempeñaron de mejor manera los animales CT (igual que el día1), seguido de las 7pm (1ª hora después del cambio de luces). La hora de peor desempeño es la 1pm, momento en que además se observa la mayor dispersión de datos (igual que en el día1). Al igual que el día anterior, se observa un incremento en el tiempo de latencia en el último ensayo, sin importar la hora.

El grupo MC muestra un mejor desempeño que el día anterior, siendo esta vez muy similar al del grupo CT. Su peor hora es la 1pm (contrario al día anterior), momento en el cual su dispersión es también la más alta.

Los datos de ambos días indican que las 7am y la 1am son las mejores horas para el grupo CT (segunda mitad de la fase de actividad y principios de la fase de reposo). En el grupo MC no se puede definir la mejor hora, ya que el desempeño varía en cada una de las horas en los dos días.

Eficiencia de aprendizaje

Se calculó la eficiencia de aprendizaje, valor que al acercarse a uno indica una mayor eficiencia. Al igual que en las gráficas de latencia se observa que de manera general se inicia con una eficiencia baja, y al paso de los ensayos esta eficiencia aumenta.

EFICIENCIA DE APRENDIZAJE DÍA 1

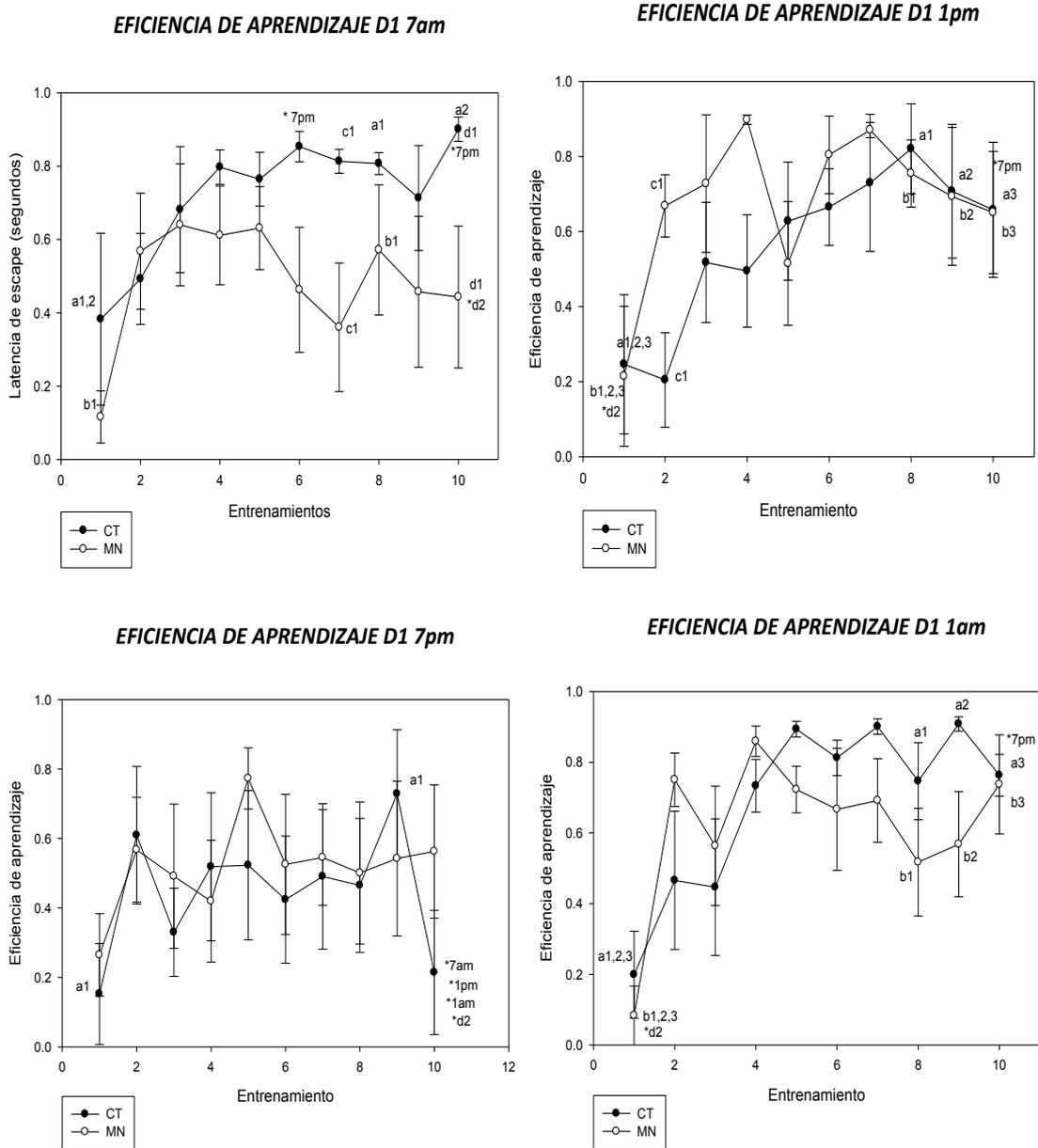


FIGURA 20. Eficiencia de aprendizaje (media±esm). Gráficas a distintas horas del D1 de la eficiencia de aprendizaje (CT y MC) a lo largo de 10 entrenamientos. Con asterisco los puntos en donde se encontraron diferencias significativas tanto a la misma hora y día, como entre horas y días. Se marcaron con la misma letra los puntos en los que se encontraron diferencias significativas en el mismo día y hora; *d2 indica que en ese entrenamiento, a la misma hora pero del día2 se encontraron dif. Significativas; *7am,1pm,1am,7am indican que en ese entrenamiento el mismo día, pero diferente hora, muestra dif. Significativas.

EFICIENCIA DE APRENDIZAJE DÍA 2

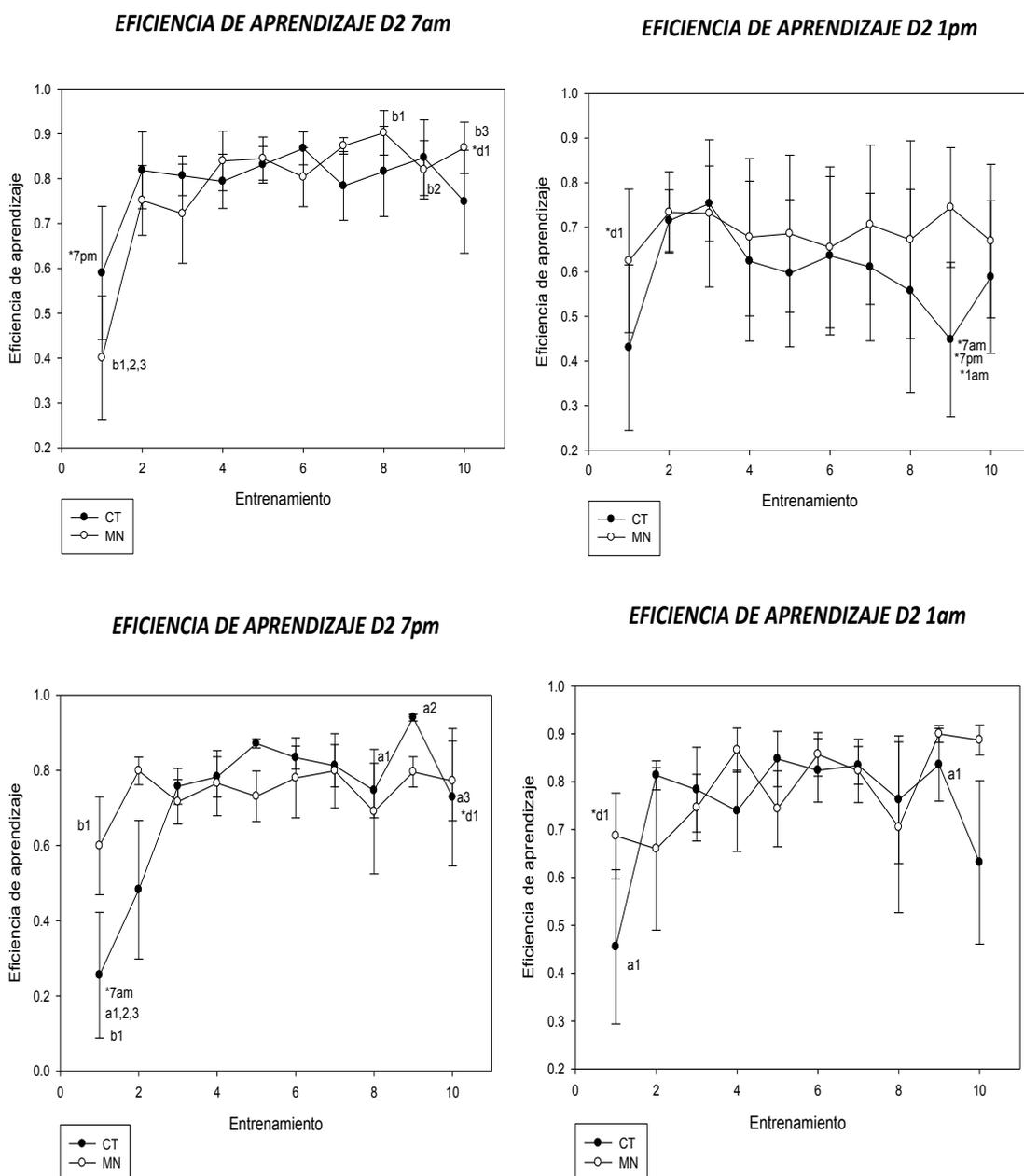


FIGURA 21. Eficiencia de aprendizaje (media±esm). Gráficas de la eficiencia de aprendizaje (CT y MC) a lo largo de 10 ensayos, y a distintas horas del D2 (7am,13pm,7pm y 1am). Marcados con asteriscos los puntos en donde se encontraron diferencias significativas tanto a la misma hora y día, como entre horas y días. Se marcaron con la misma letra los puntos en los que se encontraron diferencias significativas en el mismo día y hora; *d1 indica que en ese entrenamiento, a la misma hora pero del día1 se encontraron dif. Significativas; *7am,1pm,1am,7am indican que en ese entrenamiento el mismo día, pero diferente hora muestra dif. Significativas.

El grupo CT muestra, en el D1, su mayor eficiencia a las 7am y la peor a las 7pm, hora en que la eficiencia es casi constante. En cuanto a dispersión, se observa que a las 7 y 1am (horas con mayor eficiencia), la dispersión disminuye con el paso de los entrenamientos. Por el contrario a las 7 y 1pm (horas de menor eficiencia), la dispersión siempre es alta.

En el D2 las 7am también es la hora de mayor eficiencia, seguida de la 1am; mientras que la hora con menor eficiencia es la 1pm. En este día se observa que la dispersión, en general, disminuye al pasar los entrenamientos; a excepción de la 1pm, en donde la dispersión siempre es muy grande.

En el caso del grupo MC, en el D1 presentan una mayor eficiencia a la 1pm y 1am, mientras que la menor eficiencia es a las 7am, contrario al D2 donde la mayor eficiencia se presenta a las 7am y la peor a la 1pm.

En ambos días la 1am y 7pm presentan una eficiencia media a comparación de las demás horas. De manera general a todas horas, en los dos días, se presenta una dispersión alta a comparación de las observadas en el grupo CT.

Se observa una tendencia a disminuir la eficiencia en los últimos ensayos, independientemente de hora y grupo. Esto podría estar indicando falta de interés o cansancio.

DISTANCIA RECORRIDA DÍA 1

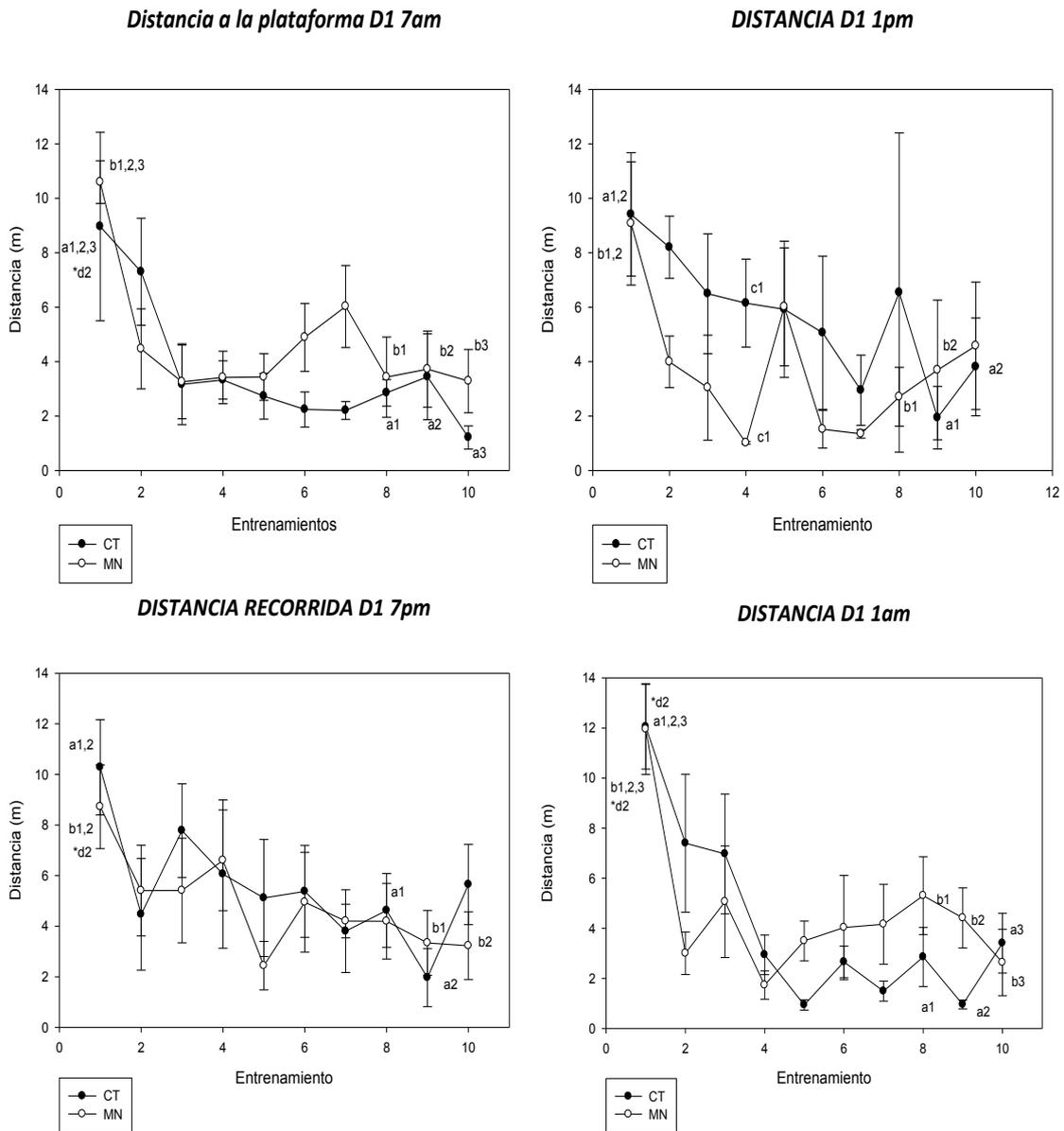


FIGURA 22. Distancia recorrida en metros desde el momento de la liberación del animal hasta el momento de encontrar la plataforma (media±esm). Gráficas a distintas horas del D1 de la distancia recorrida (CT y MC) a lo largo de 10 entrenamientos. Con asterisco los puntos en donde se encontraron diferencias significativas tanto a la misma hora y día, como entre horas y días. Se marcaron con la misma letra los puntos en los que se encontraron diferencias significativas en el mismo día y hora; *d2 indica que en ese entrenamiento, a la misma hora pero del día2 se encontraron dif. Significativas; *7am,1pm,1am,7am indican que en ese entrenamiento el mismo día, pero diferente hora muestra dif. Significativas.

DISTANCIA RECORRIDA DÍA 2

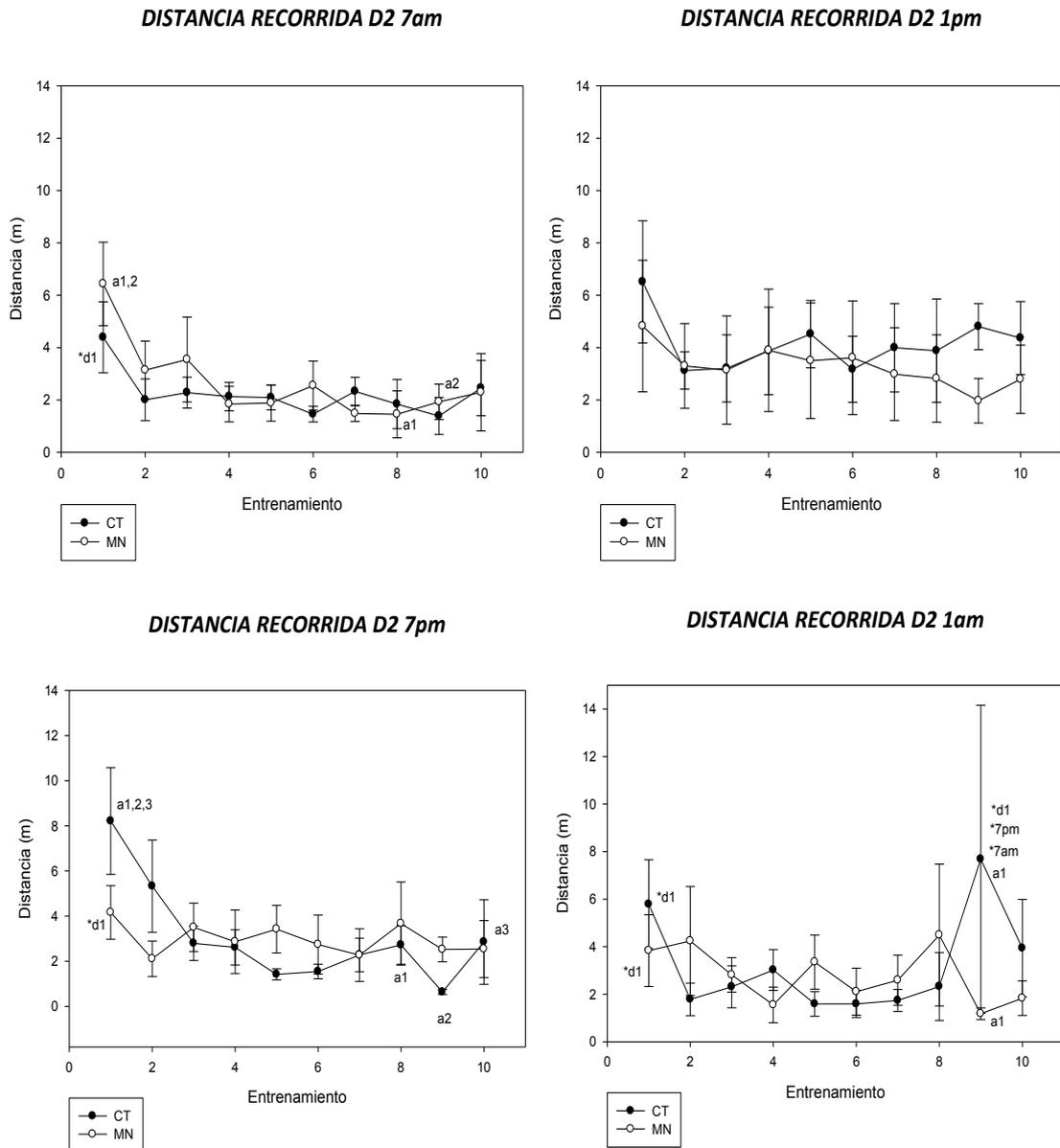


FIGURA 23. Distancia recorrida en metros desde el momento de la liberación del animal hasta el momento de encontrar la plataforma (media±esm). Gráficas a distintas horas del D2 de la distancia recorrida (CT y MC) a lo largo de 10 entrenamientos. Con asterisco los puntos en donde se encontraron diferencias significativas tanto a la misma hora y día, como entre horas y días. Se marcaron con la misma letra los puntos en los que se encontraron diferencias significativas en el mismo día y hora; *d1 indica que en ese entrenamiento, a la misma hora pero del día1 se encontraron dif. Significativas; *7am,1pm,1am,7am indican que en ese entrenamiento el mismo día, pero diferente hora muestra dif. Significativas.

Se observa para ambos grupos, sin importar hora y día, que en el primer entrenamiento la distancia recorrida es elevada, pero al pasar los entrenamientos ésta va disminuyendo.

En general la distancia recorrida en el D2 es menor que en el D1 y disminuye más rápidamente con el paso de los ensayos, a excepción de la 1pm del D2, en donde la distancia recorrida es elevada y se mantiene casi constante para ambos grupos.

La distancia recorrida por el grupo CT y el MC, es bastante similar, sin importar hora y día; a excepción del D1 a la 1pm, en donde el grupo MC recorre menor distancia que el CT en la mayoría de los puntos.

Al igual que en las gráficas anteriores se observa que la dispersión de los datos es mucho mayor en el grupo MC, siendo siempre bastante elevada a comparación del grupo CT. La hora de mayor dispersión para ambos grupos es la 1pm, tanto en el D1 como en el D2.

Similar a las gráficas anteriores se observa, en muchos de los casos, que la distancia recorrida aumenta en los últimos entrenamientos.

VELOCIDAD DE NADO DÍA 1

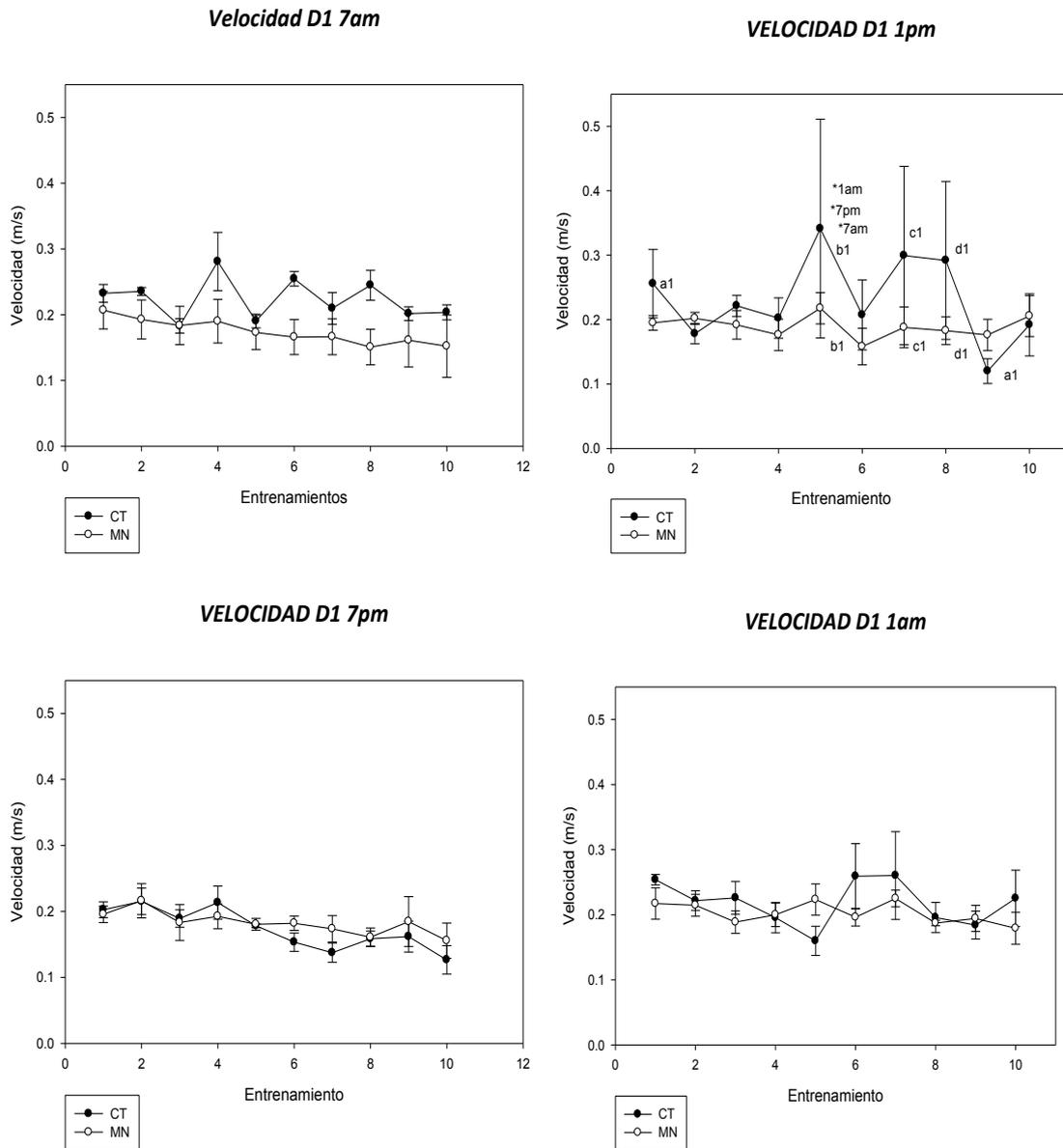


FIGURA 24. Velocidad de nado en metros sobre segundos (media±esm). Gráficas a distintas horas del D1 de la velocidad de nado (CT y MC) a lo largo de 10 entrenamientos. Con asterisco los puntos en donde se encontraron diferencias significativas tanto a la misma hora y día, como entre horas y días. Se marcaron con la misma letra los puntos en los que se encontraron diferencias significativas en el mismo día y hora; *d2 indica que en ese entrenamiento, a la misma hora pero del día2 se encontraron dif. Significativas; *7am,1pm,1am,7am indican que en ese entrenamiento el mismo día, pero diferente hora muestra dif. Significativas.

VELOCIDAD DE NADO DÍA 2

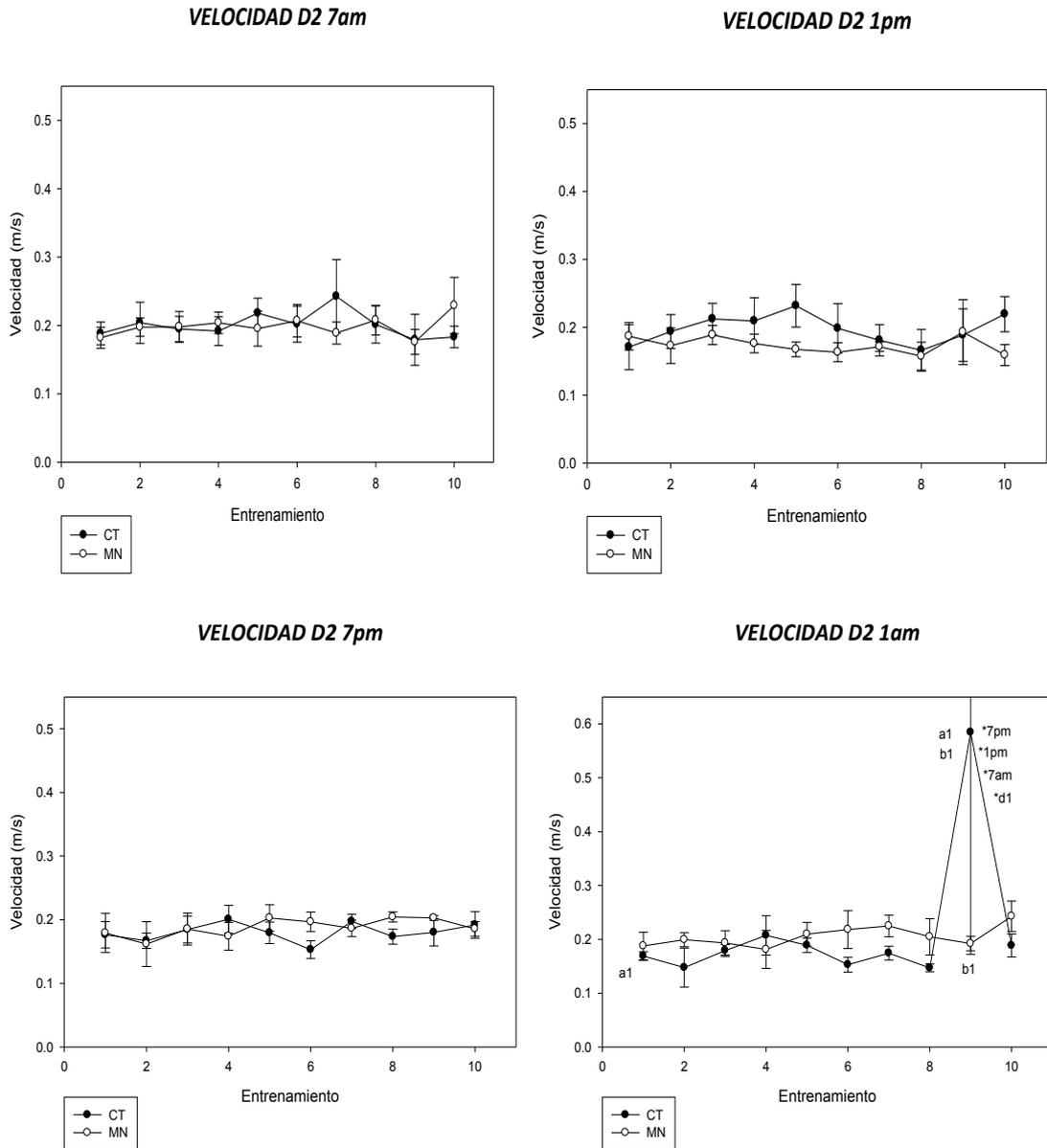


FIGURA 25. Velocidad de nado en metros sobre segundos (media±esm). Gráficas a distintas horas del D2 de la velocidad de nado (CT y MC) a lo largo de 10 entrenamientos. Con asterisco los puntos en donde se encontraron diferencias significativas tanto a la misma hora y día, como entre horas y días. Se marcaron con la misma letra los puntos en los que se encontraron diferencias significativas en el mismo día y hora; *d1 indica que en ese entrenamiento, a la misma hora pero del día1 se encontraron dif. Significativas; *7am,1pm,1am,7am indican que en ese entrenamiento el mismo día, pero diferente hora muestra dif. Significativas.

La velocidad de nado es bastante similar entre grupos (CT y MC) y se mantiene relativamente constante a lo largo de los entrenamientos, tanto en el D1 como en el

D2. La excepción es a la 1pm en el D1 y la 1am en el D2, horas en que la velocidad de nado es, en algunos puntos, mayor en el grupo CT que en el MC. Solamente estos puntos presentan diferencias significativas.

El grupo CT muestra, a la 1pm del D1, 3 puntos que se disparan y presentan diferencias significativas con el grupo MC y con otras horas. Lo mismo sucede a la 1am del D2, pero sólo con un punto. Los puntos mencionados sobresalen de la tendencia general y muestran dispersiones muy altas en comparación con todos los demás puntos. Esto puede deberse a que los datos de uno o dos individuos se disparan de la media general, provocando que la tendencia de la gráfica se vea afectada.

A diferencia de las gráficas anteriores, en este caso se observa que la dispersión es de manera general baja en ambos grupos, aunque sí se observan variaciones dependientes de la hora del día.

En el D1 la hora con menor dispersión es a las 7am para el grupo CT y las 7pm para el grupo MC. Mientras que para el D2 es a las 7pm para el grupo CT y las 7pm y 1pm para el grupo MC.

EVALUACIÓN DE MEMORIA ESPACIAL

Posterior a los entrenamientos se realizaron pruebas de memoria a corto y largo plazo. Con los resultados obtenidos en estas pruebas se hizo un análisis de Cosinor, para determinar si los animales presentaban un ritmo circadiano de memoria.

El programa ChronosFit arrojó para el grupo CT un ritmo de 24h para la memoria a corto plazo, mientras que no se encontró ritmo alguno para el grupo MC.

Al hacer un análisis más exhaustivo se encontró también un ritmo de 12h para el grupo CT, sin embargo este ritmo no es lo suficientemente robusto como para considerarse verdadero, razón por la que no se observa.

MEMORIA A CORTO PLAZO

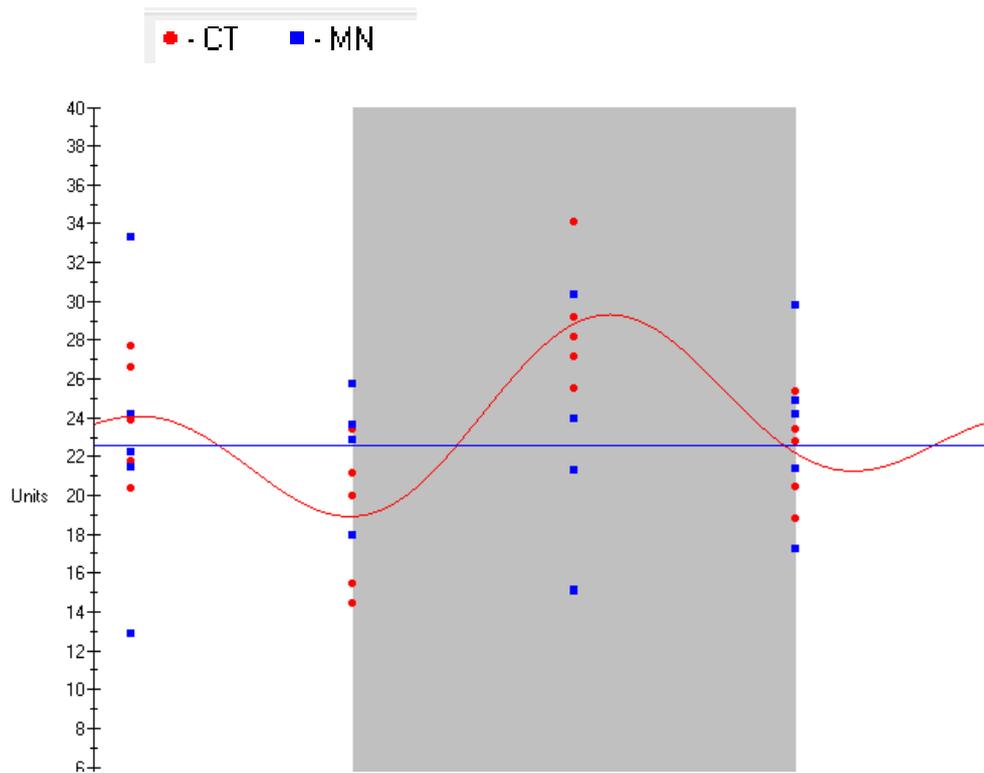


Figura 26. Ritmo diario de memoria a corto plazo (Prueba1). En rojo el ritmo de los animales CT. En azul el ritmo de los animales MC, al no presentar ritmo solamente se observa una línea.

Tabla IV. ANÁLISIS COSINOR DE PERFIL DIARIO DE MEMORIA A CORTO PLAZO

	Ritmo	F	p	% de ritmo	Mesor	Amplitud	Acrofase
CT	24h	8.86	0.000000793	61.06	23.5	2.88	3.29
MP	--	--	--	--	--	--	--

MEMORIA A LARGO PLAZO

El programa ChronosFit arrojó para el grupo CT un ritmo de 24h para la memoria a largo plazo, mientras que no se encontró ritmo alguno para el grupo MC.

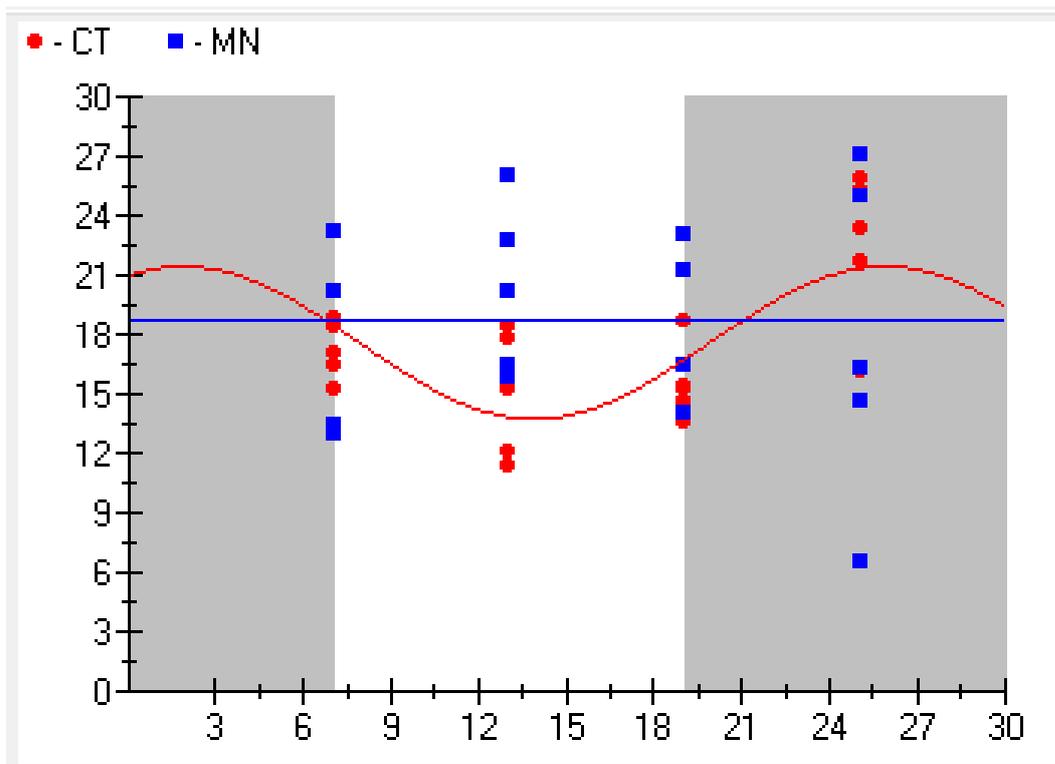


Figura 27. Ritmo diario de memoria a largo plazo (Prueba2). En rojo el ritmo de los animales CT. En azul el ritmo de los animales MC, al no presentar ritmo solamente se observa una línea.

Tabla V. ANÁLISIS COSINOR DEL PERFIL DIARIO DE MEMORIA A LARGO PLAZO

	Ritmo	F	p	% de ritmo	Mesor	Amplitud	Acrofase
CT	24h	8.26	0.003115	49.29	17.52	3.85	1.86
MP	--	--	--	--	--	--	--

Al comparar los ritmos de la Prueba 1 (P1) y Prueba 2 (P2) se observa que el porcentaje de ritmo es mayor en la P1, lo que indica que este ritmo es más robusto. La amplitud es mayor en la P2, sin embargo esta diferencia no es muy grande.

En la P2 la acrofase se da unas horas después que en la P1, lo que indica un retraso de fase. Sin embargo, en ambas pruebas la acrofase se da en la segunda mitad de la fase de oscuridad (fase activa). Por otro lado, la batifase se da en diferentes fases; en la P1 se da en el cambio de luz a oscuridad, mientras que en la P2 se da a la mitad de la fase de luz (fase inactiva).

DISCUSIÓN

PESO CORPORAL

La diferencia en el peso corporal entre grupos confirma lo que se ha observado en estudios anteriores, en donde los animales malnutridos a pesar de aumentar de peso una vez terminado el periodo de malnutrición, siguen presentando un peso y talla bajos en comparación con el grupo CT (Tonkiss *et al.*, 1994; Meryem y Wail, 2012; Valadares y Almeida, 2005; Miñana-Solis y Escobar, 2008; Valadares *et al.*, 2010; Aguilar-Roblero *et al.*, 1997); esto parece deberse a que las condiciones nutricionales durante las primeras etapas de vida determinan la regulación del peso corporal en los animales adultos (Passos *et al.*, 2000). En este caso, el grupo MN pesó un 18.5% menos que el grupo CT.

Estas diferencias observadas a los 55 días de edad nos indican que las alteraciones provocadas por la MN perinatal tienen efectos a largo plazo que no son completamente reversibles. La relación peso/talla observable continúa siendo menor en el grupo malnutrido por el resto de su vida.

RITMO DE INGESTA DE AGUA

Como muchos ritmos circadianos que se encuentran controlados por el oscilador maestro ubicado en el NSQ, el ritmo de ingesta de agua se usó como un marcador confiable del funcionamiento general del NSQ.

Como se esperaba, se observa que ambos grupos presentan su acrofase durante la fase de actividad (fase oscura), tal como se ha reportado anteriormente (Selmaoui *et al.*, 2004).

Al hacer el análisis de los actogramas, no se encontró ninguna alteración notable en el ritmo durante el régimen L:D, mostrando ambos grupos un periodo cercano a 24hrs. Esto difiere con estudios anteriores en donde se observó una partición del ritmo en ratas sometidas a MN crónica (Aguilar-Roblero *et al.*, 1997). Esta diferencia puede deberse a que nuestro registro no se continuó hasta la edad en la que se registró esta partición (110 días), además que el protocolo de MN concluyó al momento del

destete, mientras que en el estudio de Aguilar-Roblero la MN continuó durante todo el experimento.

Durante la primera fase del registro del ritmo de ingesta de agua (L:O) se realizó la manipulación conductual relativa al LAM. El registro de ingesta de agua demostró que la manipulación conductual no produjo ningún cambio.

Al cambiar el fotoperiodo a O:O ambos grupos inician con un libre corrimiento del ritmo, como era esperado sin presentar alteraciones o diferencias significativas. Sin embargo, al someterlos a resincronización (12:12, L:O) los MC tardaron aprox. 24hrs más que el grupo CT ($T=-2.40$; $p=0.047$; $g.l.=7$) en sincronizarse a la condición de iluminación, lo cual soporta la idea de que en las ratas MN podría existir una alteración en el sistema circadiano y la señal fótica como sincronizador.

Asimismo, aunque no se realizó un análisis estadístico, se observó que la distribución de los eventos de ingesta de agua fue menor en los MC, aunque esto puede deberse a que la necesidad fisiológica de agua entre ambos grupos es diferente dada la diferencia en peso y talla.

ACTIVIDAD/REPOSO (α/ρ)

Se realizaron análisis de la relación alfa/ro para determinar si existían alteraciones en la proporción de actividad en ambas fases del fotoperiodo y en 24h, ya que se ha observado que los animales MN presentan una inversión en el ritmo de sueño (Durán, 2000).

Aunque la tendencia observable en la distribución temporal de la ingesta de agua entre los grupos es diferente tanto en la fase inactiva (fase de luz), activa (fase de oscuridad) y en el día completo, estas diferencias no son significativas estadísticamente.

De manera general se observa lo que se esperaba en ambos grupos, en la fase de oscuridad el animal pasa un 50% o más del tiempo activo; en la fase de luz pasa un 50% o más del tiempo en reposo. Al momento de analizar el día completo se observa que los animales pasan mucho mayor tiempo en reposo de lo que lo pasan activos;

esto difiere a lo esperado, una relación cercana al 50-50 entre tiempo de actividad y reposo.

Las diferencias observadas de mayor actividad en el grupo CT, así como el valor elevado de reposo en MC y CT, puede deberse a que la actividad se mide como ingesta de agua, por lo que si el animal está activo pero no ingiere agua esto se interpretará como reposo.

A pesar de todo, los animales MC muestran una ritmicidad circadiana de ingesta de agua remarcablemente normal, indicando que la fuerza de la organización circadiana persiste a pesar de la malnutrición perinatal (Aguilar-Roblero *et al.*, 1997; Velasco *et al.*, 1993), demostrando que este es un ritmo altamente estable.

Por lo que las alteraciones observadas en otros ritmos circadianos en ratas MC pueden deberse, como sugiere Aguilar-Roblero *et al.*, en 1997, no solo a alteraciones en el NSQ sino a otras influencias del insulto al organismo, como la alteración anatomo-funcional de las estructuras relacionadas con el control de la ingesta de agua y la expresión de otros ritmos.

LABERINTO ACUÁTICO DE MORRIS

En este trabajo se realizó un estudio de memoria espacial, por lo que la integridad de las estructuras cerebrales involucradas son de gran relevancia.

El LAM es una prueba de memoria espacial en la que el hipocampo juega un papel determinante. Se sabe que el hipocampo tiene aferencias y eferencias en el hipotálamo y en particular, existen evidencias que indican que las alteraciones, ablaciones o remoción del NSQ produce alteración en los procesos de memoria y aprendizaje (Ruby *et al.*, 2008; Eckel-Mahan, 2012; Durán *et al.*, 2011).

Durán *et al.* en el 2011, realizaron un estudio de memoria de trabajo y la eficiencia de aprendizaje en ratas malnutridas adultas, ellos reportaron la existencia de alteraciones en el ritmo diario, así como acrofases distintas.

En el presente trabajo también se observa que este tipo de malnutrición altera la eficiencia de aprendizaje y memoria espacial. Lo cual apoya la influencia del marcapasos circadiano en los procesos de aprendizaje y memoria.

ENTRENAMIENTOS (PROCESO DE APRENDIZAJE)

Las gráficas de latencia de escape, eficiencia de aprendizaje y distancia nos muestran que ambos grupos aprenden de manera correcta la tarea, ya que se observa que en los primeros entrenamientos hay mayor dificultad en encontrar la plataforma que en los últimos, en donde se observa que la tarea es realizada cada vez más rápidamente y por lo tanto se recorre menor distancia. Esto se confirma al encontrarse, en la mayoría de las gráficas, diferencias significativas entre el primer entrenamiento y los tres últimos entrenamientos. Corroborando que la tarea está siendo aprendida.

Lo mismo pasa en el segundo día, en donde en el primer entrenamiento la latencia es menor que en el día 1, y el tiempo de encontrar la plataforma disminuye más rápidamente, debido a que ya se tiene un conocimiento previo que ha sido almacenado.

En muchas de las gráficas se observa que en el último o últimos dos ensayos hay en lugar de una disminución, un aumento en la latencia de escape. Esto puede deberse a falta de interés en la tarea o a fatiga física, ya que estos animales eran juveniles. En los MC esto es altamente probable, ya que debido a su menor masa muscular son más susceptibles a fatigarse (Tonkiss *et al.*, 1994).

Por otro lado, de manera general los tiempos a lo largo de los entrenamientos fueron muy similares entre CT y MC, aunque sí existen algunos puntos en cada uno de los días y horas en que se encontraron diferencias significativas, lo cual apoya la tesis de que las estructuras relacionadas con la memoria están siendo influidas por el marcapasos circadiano.

Una posible explicación a esto es la comodulación de ondas theta-gamma (TGC), ya que se sabe acompaña la recuperación de la memoria en el hipocampo, pero no la exploración espacial en los entrenamientos, ni la velocidad de nado (Shirvalkar *et al.*, 2010). Por lo tanto, si lo captado conductualmente es un reflejo de esta comodulación

de ondas, y los MC presentan afectaciones en ésta, se puede explicar porqué existen diferencias en las pruebas (etapas de recuperación de memoria), pero no en los entrenamientos (etapa de aprendizaje). Se ha reportado que en este modelo de malnutrición la distribución circadiana del ritmo theta está alterada (Durán *et al.*, 2008).

Otra posible explicación es la lateralización y diferente funcionalidad de los hemisferios del hipocampo, ya que se ha observado (en humanos) que durante los entrenamientos existe una activación hipocámpica bilateral (Iglói *et al.*, 2010), por lo que es posible que al trabajar ambos hemisferios los daños en el hipocampo de los animales MC se compensen o reduzcan su efecto. Esto no sucede en las pruebas, ya que en esta caso la respuesta hipocámpica es lateralizada (Iglói *et al.*, 2010), por lo que el posible daño existente en los hemisferios se reflejaría directamente en los resultados, ya que no habría un mecanismo de compensación. La actividad eléctrica del CA1, corteza prefrontal presenta diferencias en el acoplamiento temporal durante el ciclo de sueño y vigilia en este modelo de malnutrición (Durán *et al.*, 2014).

Además, la ausencia de diferencias significativas entre grupos en los entrenamientos nos habla de que a pesar del insulto de la MN el sistema nervioso tiene un gran potencial de crecimiento y maduración (Morgane *et al.*, 1978), y que la plasticidad cerebral provee cierta protección de las influencias externas, lo cual permite que el organismo se adapte (De Souza *et al.*, 2011) y pueda sobrevivir.

En cuanto a las gráficas de velocidad, se observa que los valores son relativamente constantes a lo largo de los dos días y sin diferencias significativas entre grupos, a excepción de algunos puntos que sobresalen debido a la variación de valores de uno o dos animales. Esto comprueba que no existe una alteración en la capacidad locomotora de los animales MC, ya que de ser así la velocidad de nado variaría entre grupos. Por lo tanto, todas las alteraciones encontradas pueden interpretarse como afectaciones directas en el proceso de aprendizaje y memoria espacial y su distribución temporal diaria.

Por último, algo notable en las gráficas es la dispersión de los datos. En general se observa que los primeros puntos presentan una mayor dispersión que los últimos, lo cual es de esperarse ya que al no conocerse la tarea en un principio, los animales se

comportaran de maneras muy distintas, pero conforme avanzan los entrenamientos y los animales aprenden la tarea el comportamiento será más parecido.

Por otro lado, en la mayoría de los casos el grupo MC presenta mayor dispersión que el CT, indicando que hay menor estabilidad en el comportamiento, lo cual podría indicarnos que su proceso de atención no es constante (Duran *et al.*, 2011).

Además de esto, la dispersión varía en ambos grupos dependiendo de la hora, lo que indica un posible ritmo circadiano asociado a los procesos de aprendizaje, ya que se observa que en algunas horas los animales presentan gran similitud en su comportamiento siendo la dispersión mínima, mientras que a otras horas la dispersión es muy elevada.

PRUEBAS (MEMORIA A CORTO Y LARGO PLAZO)

Los resultados observados en las pruebas de memoria son los esperados, encontrándose una distribución temporal diaria de memoria espacial de 24h en los animales CT, tanto en la memoria a corto como a largo plazo, sugiriendo que estas respuestas fisiológicas y conductuales estarían bajo la influencia de un control circadiano. Esto concuerda con estudios anteriores en donde se ha reportado que el desempeño en los procesos de memoria y aprendizaje varía dependiendo de la fase (Eckel-Mahan y Storm, 2009), así como con la existencia de un ritmo diario de atención (Romero-Sánchez, 2010). La falta de ritmo en los animales MC concuerda con los resultados obtenidos por Romero-Sánchez, 2010 ya que en el proceso de atención se encontró un ritmo muy débil, casi inexistente. Esta ausencia de ritmo en los animales malnutridos puede explicar las diferencias conductuales y cognitivas reportadas en diversos estudios (Castañon-Cervantes y Cintra, 2002), indicando que la MN puede afectar varias estructuras cerebrales, así como los mecanismos mediante los cuales resuelven su relación con la sincronización al reloj circadiano; ya que como se ha reportado anteriormente las afectaciones causadas por la MN son sutiles, pero muy amplias, abarcando los niveles anatómico, fisiológico y conductual (Morgane *et al.*, 1978; Valadares *et al.*, 2005).

Lo observado en los animales MC en los entrenamientos y pruebas concuerda con

otros estudios, en donde se observa que los animales MN presentan tasas de aprendizaje normales, pero alteraciones en el proceso de readquisición de la memoria (Resnick *et al.*, 1979; Morgane *et al.*, 1978).

La diferencia de amplitudes en los ritmos puede indicar una diferencia en la estabilidad de éstos (Turek *et al.*, 1995), siendo un poco más estable el ritmo de la Prueba2, relacionado con el mantenimiento de la memoria en el largo plazo. a pesar de que el porcentaje de ritmo es menor. Es decir, la capacidad de recordar está presente aunque no se correlaciona con el control circadiano indicando que estos procesos son independientes entre sí, pero si las condiciones son óptimas se acoplan.

Para ambas pruebas la acrofase se encuentra en la segunda mitad de la fase de oscuridad, lo que era de esperarse ya que las ratas son animales nocturnos, por lo que sus momentos de mayor eficiencia serán en la noche. Al analizar las acrofases se observa un adelanto de fase en la Prueba2 con respecto a la 1, lo cual puede sugerir que la memoria tiene un reajuste en cuanto al punto temporal de su eficiencia cuando se requiere para una tarea futura (Fuentes-Cano, 2013).

Las diferencias, aunque pequeñas, encontradas entre los dos ritmos, pueden deberse a que los procesos (factor cognitivo), las estructuras involucradas y la etapa (el momento) son distintos en cada una de las pruebas, pudiendo ser que la coordinación de las regiones se dé de manera diferente.

Como se menciona anteriormente, se encontró también un ritmo de 12h para el grupo CT, sin embargo este ritmo no es lo suficientemente robusto como para considerarse un verdadero ritmo, razón por la que no se ahondó más en el tema. Esto puede deberse a una falta de madurez en el sistema nervioso central, ya que los animales apenas están entrando en la etapa adulta, aunque también podría indicar una reducción en la fuerza de acoplamiento del control circadiano como lo sugiere (Aguilar-Roblero *et al.*, 1997) para el ritmo de ingesta de agua.

Este ritmo también podría reflejar la combinación de dos o más ritmos independientes, ya que se ha sugerido que la formación hipocámpica presenta varios generadores de ritmo y numerosos dipolos theta estrato específicos trabajando al mismo tiempo y cada una actuando como un oscilador distinto (Montgomery *et al.*, 2009; Stella y

Treves, 2011), por lo que podría ser el reflejo de un solapamiento de distintos ritmos debido a una falta de sincronización entre las distintas capas.

El hecho de que no se hayan encontrado alteraciones en el ritmo de ingesta de agua, pero sí en el ritmo diario de memoria espacial en los animales MC, podría indicarnos que el NSQ no es la principal influencia los ritmos de memoria espacial o bien que el control y su alteración es más sensible, lo cual pudiera estar relacionado con la importancia de esta función para la supervivencia del organismo. Indicando esto que tanto las estructuras involucradas, como las rutas y los procesos de generación de ritmicidad son distintas en estas tareas, y al parecer independientes, aunque posiblemente ambos guiados por la luz y las condiciones del medio.

En el caso de los ritmos de memoria espacial, se ha sugerido que el ritmo theta puede ser uno de los principales dirigentes, ya que es el mecanismo de reloj más prominente en el prosencéfalo (Montgomery *et al.*, 2009; Stella y Treves, 2011) y modula, en diferentes grados, la actividad de todas sus neuronas (Stella y Treves, 2011), aunque es un ritmo no geofísico dependiente, se sugiere que está acoplado con el oscilador circadiano.

De ser así, los resultados obtenidos durante las pruebas serían el reflejo de la magnitud de la sincronización del ritmo theta con, muy probablemente, ondas gamma, y bajo esta suposición la tarea conductual funcionaría como el “reloj” de estos ritmos, los cuales podrían estar mayormente influidos o “dirigidos” por factores ajenos que aún no se conocen plenamente, como entradas externas (Buzsáki y Moser, 2013), señales extrahipocámpales o factores que estén influidos por los cambios de luz.

Por otro lado, los resultados obtenidos de los MC parecen indicar que de manera general estos animales no presentan gran afectación en los procesos de aprendizaje, ya que aprenden de manera similar al grupo control; sin embargo presentan problemas relacionados con el ritmo en el proceso de memoria. Esta falta de ritmo puede ser un reflejo de afectaciones a diversos componentes neuroanatómicos y circuitos cerebrales involucrados en el sistema de memoria, por ejemplo en ciertos atributos de las oscilaciones theta, lo que podría estar provocando una falta de coordinación o comunicación entre áreas, ya que se ha sugerido que coordinan diferentes áreas del cerebro (principalmente hipocámpales), administrando el flujo de

información entre ellas (Stella y Treves, 2011; Montgomery *et al.*, 2009). Esto significaría que no todos los procesos relacionados a la memoria espacial están siendo afectados, sino sólo algunos de ellos, lo cual explicaría porque no existe una gran diferencia entre los tiempos en los cuadrantes, pero sí en los ritmos.

El no presentar un ritmo diario de memoria provoca que la respuesta sea similar a todas horas, lo cual significa una desventaja evolutiva en relación con sus horarios y hábitos. Al igual que en este caso, en el estudio realizado por Durán *et al* (2011) no se encontró ritmo de atención, ni de estados de vigilancia en los animales MN. A pesar de ser procesos diferentes, lo que se rescata es que los animales MN no muestran ningún ritmo en ninguno de los casos. Por lo que es claro que la afectación en la dinámica inter e intrahemisférica del circuito hipocámpico-cortical, debido a la MN está afectando diversos ritmos del cerebro y/o sus generadores (Durán, 2000).

Como se menciona anteriormente, el momento del insulto es sumamente importante, ya que de esto depende el grado de afectación (Morgane *et al.*, 1978; Morgane *et al.*, 2002; Matos *et al.*, 2011). Al tener un protocolo de MN perinatal se espera que la afectación sea grande, ya que se afecta gran parte del periodo de desarrollo del SNC (Resnick *et al.*, 1982; Morgane *et al.*, 2002), por lo que nuestros resultados coinciden con esto, al verse por completo abolidos los ritmos diarios de memoria espacial, aunque no la capacidad de aprendizaje y memoria.

Uno de los procesos que probablemente se afectó es la acción de poda (“pruning”), durante el cual se eliminan conexiones redundantes o incorrectas a través de la apoptosis (SfN, 2008; Purves *et al.*, 2004; Morgane *et al.*, 1993). Esta regulación del número de neuronas es altamente precisa, ya que el número neuronal es de gran importancia en el funcionamiento cerebral normal (Morgane *et al.*, 1993). Por lo que al verse afectado por la malnutrición se genera un número neuronal incorrecto o de conexiones sinápticas menor, lo cual probablemente tuvo un efecto negativo en el circuito involucrado en el proceso de aprendizaje y memoria.

Cabe destacar la importancia del sexo en este tipo de estudios, ya que en un estudio realizado de manera paralela en el laboratorio, pero con ratas hembra (Aragon C, 2015), los resultados obtenidos fueron significativamente diferentes. En el proceso de aprendizaje (entrenamientos) las hembras mostraron un comportamiento similar al

observado en este caso con los machos. Pero en las pruebas de memoria y en los ritmos de ingesta de agua los resultados fueron diferentes, no encontrándose ritmo ni en el grupo CT, ni el MC en ninguno de los casos. Esto puede ser muy probablemente debido a la influencia de las hormonas, ya que las hembras no se encontraban por completo maduras, sino que estaban en la etapa de transición entre juventud y adultez, momento en el que la descarga hormonal es elevada y puede afectar la expresión de los ritmos.

Para finalizar es importante distinguir que en este caso al ser un estudio conductual, todas nuestras conclusiones en cuanto al ritmo theta son suposiciones y hasta no realizar las mediciones electrofisiológicas no se puede concluir y asegurar nada de manera total.

También hay que mencionar que los resultados de este estudio muy probablemente variarían en ciertos aspectos al compararlos con estudios hechos en humanos, por lo que al momento de extrapolar las conclusiones hay que ser cuidadosos.

CONCLUSIONES

Se comprobó que la memoria espacial sí presenta un ritmo diario de 24hrs en condiciones normales, y que el insulto de MN durante la etapa perinatal provoca una seria alteración en este ritmo, aunque no afecta el ritmo de ingesta de agua. Estas alteraciones podrían suponer una desventaja para los animales MC, por lo que es necesario realizar más estudios al respecto para conocer realmente la gravedad que produce el insulto de la malnutrición y buscar mejorar mediante otras estrategias los procesos cognoscitivos, ya que aunque no de manera total, es muy probable que en los humanos suceda algo similar.

Por otra parte, los resultados parecen sugerir que la generación de diferentes ritmos puede estar modulada por diferentes marcapasos de naturaleza distinta que para aumentar la eficiencia de la tarea deben estar acoplados entre sí.

Por último, destaca la importancia de tomar en cuenta el sexo en este tipo de estudios, ya que se observa una gran diferencia en los resultados obtenidos, por lo que para tener una idea clara de qué es lo que sucede deben realizarse estudios en ambos sexos.

REFERENCIAS

- Aguilar-Roblero, R., Salazar-Juarez, A., Rojas-Castañeda, J., Escobar, C., y Cintra, L. (1997). Organization of circadian rhythmicity and suprachiasmatic nuclei in malnourished rats. *The American Journal of Physiology*, 273, 1321–1331.
- Austin, K., Bronzino, J., y Morgane, P. (1986). Prenatal protein malnutrition affects synaptic potentiation in the dentate gyrus of rats in adulthood. *Developmental Brain Research*, 29, 267-273.
- Benca, R., Duncan, M. J., Frank, E., McClung, C., Nelson, R. J., y Vicentic, A. (2009). Biological rhythms, higher brain function, and behavior: Gaps, opportunities, and challenges. *Brain Research Reviews*, 62(1), 57–70.
- Blatt, G., Chen, J., Rosene, D., Volicer, L. y Galler, J., (1994). Prenatal protein malnutrition effects on the serotonergic system in the hippocampal formation: an immunocytochemical, ligand binding, and neurochemical study. *Brain Research Bulletin*, 34 (5), 507-518.
- Bonato F., Polydoro, M., Andrades, M., Júnior, M., Dal-Pizzol, F., Rotta, L., Souza, D., Perry, M., y Moreira, J. (2005). Effect of protein malnutrition on redox state of the hippocampus of rat. *Brain Research*, 1, 17–22.
- Buzsáki, G., y Moser, E. (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nature Neuroscience*, 16(2), 130–8.
- Cain, S., McDonald, R. y Ralph, M. (2008). Time stamp in conditioned place avoidance can be set to different circadian phases. *Neurobiology of Learning and memory*, 89:591-594.
- Cardinali, D., Jordá Catalá, J., Sánchez Barceló, E. (1994). Introducción a la cronobiología: Fisiología de los ritmos biológicos. Universidad de Cantabria, Santander. 158 pp.
- Carrillo-Mora, P., Giordano, M., y Santamaría, A. (2009). Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. *Behavioural Brain Research*, 203(2), 151–64.
- Castañón-Cervantes, O., y Cintra, L. (2002). Circadian rhythms of occipital-cortex temperature and motor activity in young and old rats under chronic protein malnutrition. *Nutritional Neuroscience*, 5(4), 279–286.
- Castro, C. y Rudy, J. (1987). Early-life malnutrition selectively retards the development of distal- but not proximal-cue navigation. *Developmental Psychobiology*, 20(5), 521-537.
- Chaudhury, D., Wang L. y Colwell, C. (2005). Circadian Regulation of hippocampal long-term potentiation. *Journal of Biological Rhythms*, 20(3): 225-236.
- Chaudhury, D., y Colwell, C. (2002). Circadian modulation of learning and memory in fear-conditioned mice. *Behavioural Brain Research*, 133(1), 95–108.
- Christ, E., Korf, H. y von Gall, C. (2012). When does it start ticking? Ontogenetic development of the mammalian circadian system. *Progress in Brain Research* (1st ed., Vol. 199). Elsevier B.V.
- Cimadevilla, J., Conejo, N., Miranda, R., y Arias, J. (2004). Sex differences in the Morris water maze in young rats : temporal dimensions, *Psicotherma*, 16 (4), 611–614.
- Cintra, L., Aguilar, A., Granados, L., Galván, A., Kemper, T., DeBassio, W., Galler, J., Morgane, P., Durán, P., Díaz-Cintra, S. (1997). Effects of prenatal protein malnutrition on hippocampal CA1 pyramidal cells in rats of four age groups. *Hippocampus*, 7(2), 192–203.

- Clayton, N. y Dickinson, A. (1998). Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature*, 395, 272-274.
- D'Hooge, R., y De Deyn, P. (2001). Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews*, 36(1), 60-90.
- De Souza, A., Fernandes, F., & Tavares Do Carmo, M. (2011). Effects of maternal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on brain fatty acids, learning, and memory. *Nutrition Reviews*, 69(3), 132-144.
- Debassio W., Kemper T., Galler J., Tonkiss J. (1994). Prenatal malnutrition effect on pyramidal and granule cell generation in the hippocampal formation. *Brain Research Bulletin* 35 (1), 57-61.
- Debassio W., Kemper T., Tonkiss J., Galler J. (1996). Effect of prenatal protein deprivation on postnatal granule cell generation in the hippocampal dentate gyrus. *Brain Research Bulletin* 41 (6), 379-383.
- Deng, W., Aimone, J. y Gage, F. (2010). New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nature Reviews. Neuroscience*, 11 (5), 339-350.
- Devan, B., Goad, E., Petri, H., Antoniadis, E., Hong, N., Ko, C., Leblanc, L., Lebovic, S., Lo, Q., Ralph, M., McDonald, R. (2001) Circadian phase-shifted rats show normal acquisition but impaired long-term retention of place information in the water task. *Neurobiology of Learning and Memory*, 75: 51-62.
- Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Galván, A., Aguilar, A., Kemper, T., Morgane, J., (1991). Effects of prenatal protein deprivation on postnatal development of granule cells in the fascia dentate. *The Journal of Comparative Neurology*, 310, 356-364.
- Díaz-Cintra, S., González-Maciél, A., Morales, M., Aguilar, L., Cintra, L., Prado-Alcalá, R. (2007). Protein malnutrition differentially alters the number of glutamic acid decarboxylase-67 interneurons in dentate gyrus and CA1-3 subfields of the dorsal hippocampus. *Experimental Neurology*, 208, 47-53.
- Dudai, Y. (2004). The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annual Review of Psychology*, 55, 51-86.
- Dunlap, J., Loros, J., DeCoursey. (2004). *Chronobiology: Biological Timekeeping*, Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Durán P. (2000). Correlación de la actividad hipocámpica y el EGoG en ratas malnutridas. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Durán, P., Cintra, L., Galler, J., y Tonkiss, J. (2005). Prenatal protein malnutrition induces a phase shift advance of the spontaneous locomotor rhythm and alters the rest/activity ratio in adult rats. *Nutritional Neuroscience*, 8(3), 167-172.
- Durán, P., Miranda-Anaya, M., Mondragón-García, I., y Cintra, L. (2008). Protein malnutrition and aging affects entraining and intensity of locomotor activity and body temperature circadian rhythms in rats. *Nutritional Neuroscience*, 11(6), 263-268.
- Durán, P., Miranda-Anaya, M., Romero-Sánchez, M., Mondragón-Soto, K., Granados-Rojas, L., y Cintra, L. (2011). Time-place learning is altered by perinatal low-protein malnutrition in the adult rat. *Nutritional Neuroscience*, 14(4), 145-50.
- Durán, P., Sánchez-Jiménez, S. y Cintra, L. (2014). Sleep-wake cycle, circadian Rhythms and malnutrition. A review. En: *Neurociencia e Desenvolvimento Humano: o infinito nao acaba jamais*. Vasconcelos C y Neto. Ed. Schoba.

- Dusek, J. y Eichenbaum, H. (1997). The hippocampus and memory for orderly stimulus relations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 7109-7114.
- Eckel-Mahan, K. (2012). Circadian oscillations within the hippocampus support memory formation and persistence. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 5, 46.
- Eckel-Mahan, K. L., y Storm, D. R. (2009). Circadian rhythms and memory: not so simple as cogs and gears. *EMBO Reports*, 10(6), 584-591.
- Eckel-mahan, K., Phan, T., Han, S., Wang, H., Chan, G., Scheiner, Z., y Storm, D. (2008). Circadian oscillation of hippocampal MAPK activity and cAMP: implications for memory persistence, *Nature Neuroscience*, 11(9), 1074-1082.
- FAO. (2014). Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional en América latina y el caribe 2013. Hambre en América latina y el caribe: acercándose a los objetivos del milenio.
- Feoli, A., et al. (2008). Developmental changes in content of glial marker proteins in rats exposed to protein malnutrition. *Brain Research*, 1187, 33-41.
- Feoli, A., Siqueira, I., Almeida, L., Tramontina, A., Vanzella, Cl, Sbaraini, S., Schweigert, I., Netto, C., Perry, M., Goncalves, C. (2006). Effect of protein malnutrition on oxidative status in rat brain. *Nutrition*, 22 (2), 160-5.
- Fuentes-Cano, M. (2013). Alteraciones producidas por la administración perinatal de nicotina sobre los procesos de aprendizaje y memoria espacial. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Fukuda, M., Françolin-Silva, A., Hernandez, S., Valadares, C., y Almeida, S. (2007). Effects of early protein malnutrition and scopolamine on learning and memory in the Morris water maze. *Nutritional Neuroscience*, 10(5-6), 251-9.
- Fukuda, M., Francolin-Silva, A., Almeida, S. (2002). Early postnatal protein malnutrition affects learning and memory in the distal but not in the proximal cue versión of the Morris water maze. *Behavioural Brain Research*, 133, 271-277.
- Garren, M., Sexauer, S., y Page, T. (2013). Effect of Circadian Phase on Memory Acquisition and Recall: Operant Conditioning vs. Classical Conditioning. *PLoS ONE*, 8(3), e58693.
- Gerstner, J. (2012). On the Evolution of Memory: A Time for Clocks. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 5(February), 23.
- Gerstner, J., y Yin, J. (2010). Circadian rhythms and memory formation. *Nature Reviews Neuroscience*, 11, 577-588.
- Gilbert, Scott. (2005). Biología del desarrollo. Ed. Medica Panamericana. 7ª edición. España. 882pp.
- Granados-Rojas, L., Aguilar, A., y Díaz-Cintra, S. (2004). The mossy fiber system of the hippocampal formation is decreased by chronic and postnatal but not by prenatal protein malnutrition in rats. *Nutritional Neuroscience*, 7(5-6), 301-8.
- Gritton, H., Stasiak, A., Sarter, M., y Lee, T. (2013). Cognitive Performance as a Zeitgeber: Cognitive Oscillators and Cholinergic Modulation of the SCN Entrain Circadian Rhythms. *PLoS ONE*, 8(2), e56206.
- Gutiérrez, J., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Villalpando-Hernández, S., Franco, A., Cuevas-Nasu, L., Romero-Martínez, M., Hernández-Ávila, M. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX).

- Hastings, N., Gould, E. (1999). Rapid extension of axons into the CA3 region by adult-generated granule cells. *J Comp Neurol*, 413: 146-154.
- Huang, L.; Lai, M.; Wang, C.; Wang, C.; Yang, C.; Hsieh, C.; Liou C.; Yang, S. (2003). Long-term effects of early-life malnutrition and status epilepticus: Assessment by spatial navigation and CREB(Serine-133) phosphorylation. *Dev. Brain Res.*, 145, 213-218.
- Iglói, K., Doeller, C., Berthoz, A., Rondi-reig, L., y Burgess, N. (2010). Lateralized human hippocampal activity predicts navigation based on sequence or place memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 107(32), 14466-71.
- Izquierdo, I. y Medina, J. (1997). Memory formation: The sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology of Learning and Memory*, 68, 285-316.
- Ji, D. y Wilson, M. (2007). Coordinated memory replay in the visual cortex and hippocampus during sleep. *Nature Neuroscience*, 10(1): 100-107.
- Kar, B., Rao, S. y Chandramouli, B. (2008). Cognitive development in children with chronic protein energy malnutrition. *Behavioral and Brain Functions*, 4: 31, 1-12.
- Kinney B., Rabe M., Jensen R, Steger R. (2003). Maternal Hyperglycemia leads to Gender-dependent Deficits in learning and Memory in Offspring. *Experimental Biology and Medicine*, 228(2), 152-159.
- Laus, M., Vales, L., Costa, T. y Almeida, S. (2011). Early postnatal protein-calorie malnutrition and cognition: A review of human and animal studies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8(2), 590–612.
- Lister, J., Blatt, G., DeBassio, W., Kemper, T., Tonkiss, J., Galler, J. y Rosene, D. (2005). Effect of prenatal protein malnutrition on numbers of neurons in the principal cell layers of the adult rat hippocampal formation. *Hippocampus*, 15(3), 393–403.
- Lukoyanov, N. y Andrade, J. (2000). Behavioral effects of protein deprivation and rehabilitation in adult rats: relevance to morphological alterations in the hippocampal formation. *Behavioral Brain Research*, 112, 85-97.
- Matos, R., Orozco-Solís, R., De Souza, S., Manhaes-de-Castro, R., y Bolaños-Jiménez, F. (2011). Nutrient restriction during early life reduces cell proliferation in the hippocampus at adulthood but does not impair the neuronal differentiation process of the new generated cells. *Neuroscience*, 196, 16–24.
- Meryen, A. y Wail, B. (2012). Review. Malnutrition and brain development: an analysis of the effects of inadequate diet during different stages of life in rat. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36, 1463-1480.
- Miklos, G. (1993). Molecules and cognition: The latterday lessons of levels, language, and lac. Evolutionary overview of brain structure and function in some vertebrates and invertebrates. *Journal of Neurobiology*, 24(6), 842–890.
- Milner, B., Squire, L., y Kandel, E. (1998). Cognitive neuroscience and the Study of Memory, *Neuron*, 20, 445–468.
- Miñana-Solis, M. y Escobar, C. (2008). Post-weaning protein malnutrition in the rat produces short and long term metabolic impairment, in contrast to earlier and later periods. *International Journal of Biological Sciences*, 4(6), 422–432.
- Montgomery, S., Betancur, M. y Buzsáki, G. (2009). Behavior-dependent coordination of multiple theta dipoles in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 29(5), 1381–1394.
- Moore y Bernstein. 1989. Synaptogenesis in the rat SCN demonstrated by electron

- microscopy and synapsin I immunoreactivity. *The Journal of Neuroscience*. 9(6):2151-2162.
- Morellini, F. (2013). Spatial memory tasks in rodents: What do they model? *Cell and Tissue Research*, 354(1), 273–286.
- Morgane, P., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T., Galler, J. (1993). Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 17(1), 91–128.
- Morgane, P., Miller, M., Kemper, T., Stern, W., Forbes, W., Hall, R., Bronzino, J., Kissane, J., Hawrylewicz, E., Resnick, O. (1978). The effects of protein malnutrition on the developing central nervous system in the rat. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2, 137-230.
- Morgane, P., Mokler, D., y Galler, J. (2002). Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26, 471–483.
- Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 11(1), 47–60.
- Passos, M., Ramos, C. y Moura, E. (2000). Short and long term effects of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. *Nutrition Research*, 20(11): 1603-1612.
- Purves D. *et al.* (2004). *Neuroscience*. 3a edición. Sinauer Associates, USA. 774pp.
- Ranade, S., Rose, A., Rao, M., Gallego, J., Gressens, P., y Mani, S. (2008). Different types of nutritional deficiencies affect different domains of spatial memory function checked in a radial arm maze. *Neuroscience*, 152(4), 859–866.
- Redolar, D. (2011). *Cerebro y adicción*. Ed. UOC, 568pp.
- Resnick, O., Miller, M., Forbes, W., Hall, R., Kemper, T., Bronzino, J., y Morgane, P. (1979). Developmental protein malnutrition: influences on the central nervous system of the rat. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 3(4), 233–246.
- Resnick, O., Morgane, P., Hasson, R., y Miller, M. (1982). Overt and hidden forms of chronic malnutrition in the rat and their relevance to man. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 6(1), 55–75.
- Romero-Sánchez, M. (2010). Ritmo diario de los procesos de atención y el impacto de la malnutrición en la rata adulta Sprague-Dawley. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rosso, P. (1975). Maternal malnutrition and placenta transfer of alpha-aminoisobutyric acid in the rat. *Science*, 187 (4177): 648-650.
- Ruby, N., Hwang, C., Wessells, C., Fernandez, F., Zhang, P., Sapolsky, R., y Heller, H. (2008). Hippocampal-dependent learning requires a functional circadian system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(40), 15593–15598.
- Rueda-Orozco, P. *et al.* (2006). Dependencia de los sistemas de memoria al ciclo luz-oscuridad en la expresión de estrategias adaptativas. Primera y segunda parte. *Salud Mental*, 29 (5).
- Sahar, S., y Sassone-Corsi, P. (2012). Circadian rhythms and memory formation: regulation by chromatin remodeling. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 5(March), 37.
- Selmaoui, B., Paquet, J., y Thibault, L. (2004). Reliability of the Circadian Rhythm of Water and Macronutrient-Rich Diets Intake in Dietary Choice. *Chronobiology International*, 21(3), 385–392.
- SfN. (2008). *Brain Facts* [en línea]. USA, 96pp. Disponible en: www.brainfacts.org

- Shirvalkar, P., Rapp, P., y Shapiro, M. (2010). Bidirectional changes to hippocampal theta-gamma comodulation predict memory for recent spatial episodes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(15), 7054–9.
- Soto-Moyano, R., Valladares, L., Sierralta, W., Pérez, H., Mondaca, M., Fernández, V., Hernández, A. (2005). Mild prenatal protein malnutrition increases α_{2C} -adrenoceptor density in the cerebral cortex during postnatal life and impairs neocortical long-term potentiation and visuo-spatial performance in rats. *Journal of Neurochemistry*, 93(5), 1099–1109.
- Squire Larry. (1998). Memory systems. Académie des Sciences. Elsevier. Paris. *Life Sciences* (321), 153-156.
- Stella, F., y Treves, A. (2011). Associative memory storage and retrieval: involvement of theta oscillations in hippocampal information processing. *Neural Plasticity*, 2011, 683961.
- Stenvers, D., Jonkers, C., Fliers, E., Bisschop, P. y Kalsbeek, A. (2012). Nutrition and the circadian timing system. *Progress in Brain Research* (1st ed., Vol. 199). Elsevier, Chapter 20, 359-376.
- Sumova, A., Sladek, M., Polidarova, L., Novakova, M., y Houdek, P. (2012). Circadian system from conception till adulthood. *Progress in Brain Research* (1st ed., Vol. 199). Elsevier, Chapter 5, 83-103.
- Tonkiss, J., Foster, G., y Galler, J. (1991). Prenatal protein malnutrition and hippocampal function: Partial reinforcement extinction effect. *Brain Research Bulletin*, 27(6), 809–813.
- Tonkiss, J., Galler, J., Morgane, P., Bronzino, J., Austin-LaFrance, R. (1993). Prenatal protein malnutrition and postnatal brain function. *Annals New York Academy of Sciences*, 678, 215-227.
- Tonkiss, J., Shultz, P., Shumsky, J., Galler, J. (1997). Development of spatial navigation following prenatal cocaine and malnutrition in rats: Lack of additive effects. *Neurotoxicology and Teratology*, 19 (5), 363-372.
- Tonkiss, J., Shultz, P., y Galler, J. (1994). An analysis of spatial navigation in prenatally protein malnourished rats. *Physiology and Behavior*, 55(2), 217–224.
- Tulving, E. (2002). Episodic memory: from mind to brain. *Annual Review of Psychology*, 53: 1-25.
- Turek, F., Penev, P., Zhang, Y., Reeth, O. y Zee, P. (1995). Effects of age on the circadian system. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 19 (1): 53-58
- Valadares, C., Fukuda, M., Françolin-Silva, L., Hernandez, S., y Almeida, S. (2010). Effects of postnatal protein malnutrition on learning and memory procedures. *Nutritional Neuroscience*, 13(6), 274–282.
- Valadares, C. y Almeida, S. (2005). Early protein malnutrition changes learning and memory in spaced but not in condensed trials in the Morris water-maze. *Nutritional Neuroscience*, 8(1), 39–47.
- Valentinuzzi V., Menna-Barreto, L., Xavier G. (2004). Effect of Circadian Phase on performance of Rats in the Morris Water Maze Task. *Journal of Biological Rhythms*, 19 (4): 312-324
- Velasco Plaza, A., Granda, T., y Cachero, M. (1993). Circadian rhythms of food and water intake and urine excretion in diabetic rats. *Physiology & Behavior*, 54(4), 665–70.
- WHO. (2013). Guideline updates on the management of severe acute malnutrition in infants and children. Geneva: World Health Organization.

Wang, S., y Morris, R. (2010). Hippocampal-neocortical interactions in memory formation, consolidation and reconsolidation. *Annual Review of Psychology*, 61:49-79.

Williams, R. y Herrup, K. (1988). The control of neuron number. *Annual Review of Neuroscience*, 11:423-453.

Wills, T., Muessig, L. y Cacucci, F. (2014). The development of spatial behaviour and the hippocampal neural representation of space. *Philosophical Transactions fo the Royal Society*, 369: 20130409.

Zamenhof, S., (1991). Depletion of individuals with “Outstandingly high” cerebral development in rats subjected to prenatal undernutrition. *Nutritional Research* 11 (6), 687–690.

Zelinski, E., Hong, N., y McDonald, R. (2014). Persistent impairments in hippocampal function following a brief series of photoperiod shifts in rats. *Animal Cognition*, 17(1), 127–141.

Página de la FAO: www.fao.org

Página de la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization): www.who.int

Página de la UNICEF : www.unicef.org

Página de la WFP (WORLD FOOD PROGRAME) : www.wfp.org