



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

EFFECTOS DE LA DESNUTRICIÓN PERINATAL EN LA CONDUCTA MATERNAL
DE LA RATA: UN MODELO DE PLASTICIDAD CEREBRAL

TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

PRESENTA:

MINERVA ORTIZ VALLADARES

DIRECTOR DE TESIS

DR. MANUEL SALAS ALVARADO

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

COMITÉ TUTOR

DRA. GINA LORENA QUIRARTE

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

DRA. SARA EUGENIA CRUZ MORALES

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

QUERÉTARO, QUERÉTARO, JULIO, 2019



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.

Este trabajo se realizó con el apoyo de una beca asignada a la autora por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, y el apoyo parcial del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la DGAPA/UNAM. Proyecto IN 200317.

"Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas."

Marie Curie

"Es preciso sacudir enérgicamente el bosque de las neuronas cerebrales adormecidas; es menester hacerlas vibrar con la emoción de lo nuevo e infundirles nobles y elevadas inquietudes."

Santiago Ramón y Cajal

AGRADECIMIENTOS

A lo supremo, aquello que no he podido explicar ni con la ciencia ni con la espiritualidad, pero es esa fuerza que cada día me hace ser y estar a cada respiro.

A mi madre Cecilia Valladares, guerrera incansable, maestra de vida y mi mano derecha y casi también la izquierda; por tu sensibilidad por la sociedad, por tu perseverancia, porque solo tú supiste como levantarme cuando nada lo podía hacer.

A mi padre Rene Ortiz, gracias por forjarme carácter, por ese apoyo silencioso que ahora aprendí a escuchar, por despertar en mí el sentido crítico, el interés por la política, la ciencia y los temas sociales, por decirme a los seis años rumbo a primaria: “se auténtica”, aún sigo en esa labor que me encomendaste.

Mi hermana la más pequeña Frida Ortiz, por ser la niñera natural de tus sobrinas, por enseñarme otra forma de ver la vida y por ser tan diferente a mí, dejarme quererte a mí manera, sin preguntar un porqué. A mí hermano, Rene Ortiz, por tu autenticidad, pero principalmente por soportar mis expectativas tan altas.

A mis “ñiñis”, Zoe mi primogénita, que oportunidad tan dulce haberme elegido para ser tu mamá, que paciencia y amor alberga tu corazón para ser mi pequeña compañera desde la licenciatura, no reprochar mi ausencia y ser la niña más libre, sincera y ocurrente que conozco. Aurora, mi pequeña bebé, que bueno que decidiste venir a mis brazos, por ayudarme a reconstruir el concepto de la maternidad, por tus dulces ojos grandes que me brindaron un nuevo aliento de esperanza.

A ti, Vini, quien por elección decidiste emprender un presente a mi lado, por compartir la crianza de nuestra hija; por acercarme al camino de la espiritualidad que tanto me sanó, pero principalmente por ser, simplemente ser, te amo infinitamente.

A mis hermanas por elección, Paulina y Sara, que la distancia no impidió seguir creciendo juntas, con su apoyo fundamental para no perder la cabeza.

A la doctora Norma Moy y el maestro Jorge Guzmán, que fueron quienes me iniciaron en las neurociencias, por su apoyo incondicional y por creer en mí, eso me dio las alas para establecer nuevas metas.

Al Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por el apoyo en la formación ardua y de calidad para cada estudiante, que ha contribuido al fortalecimiento de una sociedad en crecimiento.

Al Instituto de Neurobiología por cada espacio óptimo para desempeñarme, con una inigualable planta académica, personal administrativo e infraestructura que me

dio la oportunidad de continuar con mi formación profesional; en particular a Leonor Casanova y a Ma. Del Carmen Mendoza por sus atenciones y apoyo oportuno.

A la Unidad de Microscopia por su apoyo y asesoramiento para la obtención de imágenes, en especial a Nydia Hernández y Lourdes Lara.

A mi tutor, doctor Manuel Salas Alvarado, por ser un excelente guía, por sus enseñanzas siempre oportunas, por tanta sabiduría compartida que no hizo más que hacerme crecer, pero principalmente por esa calidad humana, ética, única y escasa. Gracias por hacerme mejor estudiante, mejor científica pero mi mayor gratitud por hacerme mejor ser humano.

A Carmen Torrero Solorio, por compartir sus conocimientos, por enseñarme que el método científico es multifacético, transformable y adaptable. Por su ingenio ante cada momento complicado, por mostrarme la paciencia y el amor por lo que hacemos.

A Mirelta Regalado Ortega, por su apoyo oportuno y eficaz, por su disposición a enseñar, su asesoría impecable en el trabajo conductual, pero principalmente por ser mi amiga y confidente.

A mi comité de tutoría, doctoras Gina Quirarte y Sara Cruz, por sus invaluable observaciones y apoyo semestre a semestre, con lo que pude mejorar la calidad científica, por su paciencia y tiempo valioso.

A los técnicos Carlos Lozano y Norma Serafín por su asesoría oportuna y disposición ante diferentes inquietudes.

Al personal del bioterio, MVZ Martín Servín y doctora Alejandra Castilla, por el apoyo y disposición del abastecimiento de material necesario para la realización de experimentos.

A mis compañeras del laboratorio, Claudia Salcedo, Laura Téllez y Lorena Rubio, por hacer amena la estancia en el laboratorio, por fomentar un entorno de aprendizaje y colaboración.

A mi amiga de la ciencia, Erika Orta, por poder platicar de ciencia y de nuestra humanidad, que dicha ser tu vecina de laboratorio y contar con tu apoyo humano y científico ante cualquier incertidumbre.

A la vida misma, por dejarme hacer lo que amo, por convertir en momentos de paz cada que llegaba algo nuevo que prender.

Dedico este trabajo a todas las mujeres y madres involucradas en la investigación científica, que luchan incansablemente por hacer de la ciencia un espacio de **EQUIDAD, SORORIDAD Y LIBERTAD**

ÍNDICE

RESUMEN	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1 Introducción y planteamiento del problema.....	11
2. ANTECEDENTES	13
2.1 Nutrición	13
2.2 Malnutrición.....	14
2.3 Desnutrición	14
2.3.1 Grados de desnutrición.....	15
2.3.2 Epidemiología de la desnutrición	16
2.3.3 Desnutrición gestacional.....	17
2.3.4 Desnutrición Infantil	18
2. 4 Efectos de la desnutrición	19
2.4.1 Efectos de la desnutrición en el crecimiento, órganos periféricos y metabolismo	19
2.4.2 Efectos de la desnutrición en el Sistema Nervioso Central.....	19
2.5 Conducta maternal.....	21
2.5.1 Hormonas y la respuesta maternal	23
2.5.2 Estructuras cerebrales y conducta maternal.....	25
2.5.3 Cambios plásticos durante la gestación y lactancia.....	28
2.6 Memoria, aprendizaje y su evaluación	29
2.6.1 La alternancia espontánea: uno de los modelos experimentales más empleados para el estudio de los procesos de la memoria de trabajo y del aprendizaje.	29
2.6.2 Estructuras cerebrales involucradas	29
2.6.3 Evaluación del aprendizaje y la memoria (alternancia espontánea)	30
3. MÉTODO.....	31
3.1 Pregunta de investigación.....	31
3.2 Objetivo general.....	31
3.2.1 Objetivos específicos	31
3.3 Hipótesis	32

3.4 Variables	33
3.4.1 Variables independientes.....	33
3.4.2 Variables dependientes	34
3.5 Diseño de investigación	36
3.5.1 Tipo de investigación	36
3.5.2 Población y muestra	37
3.5.3 Criterios de inclusión y exclusión.....	37
3.6 Metodología	38
3.6.1 Protocolo.....	38
4. RESULTADOS	44
4.1 Efectos de la DPP en el desarrollo somatométrico	44
4.1.1 Peso corporal.....	44
4.1.2 Peso cerebral.....	45
4.1.3 Morfometría corporal.....	46
4.2 EFECTOS DE LA DPP EN LA CONDUCTA MATERNAL	49
CONDUCTAS MATERNALES	49
4.2.1 Construcción del nido	49
4.2.3 Acarreo	50
CONDUCTAS NO MATERNALES.....	53
4.2.3 Exploración	53
4.2.4 Autoaseo.....	54
4.3 EFECTOS DE LA DPP EN LA MORFOLOGÍA NEURONAL	55
4.3.1 Cíngulo anterior	55
4.3.2 Corteza prefrontal medial.....	58
4.3.3 Amígdala basolateral	62
4.4 EFECTOS DE LA DPP EN LA EJECUCIÓN DEL LABERINTO EN T (Alternancia espontánea).....	65
5. DISCUSIÓN	69
6. CONCLUSIONES.....	76
BIBLIOGRAFÍA	77

RESUMEN

La respuesta maternal es parte de un repertorio conductual filogenéticamente muy antiguo y variado, generado por la activación de numerosas señales sensoriales integradas en el cerebro anterior, el sistema límbico y el tallo cerebral para contender con las demandas de los neonatos. La desnutrición temprana interfiere con la organización morfológica y funcional del cerebro, alterando importantemente los relevos neuronales maternos. Aquí se investigaron los efectos de la desnutrición pre- y neonatal en ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) lactantes sobre la construcción del nido, y el acarreo de crías, que se correlacionaron con mediciones dendríticas y del soma neuronal (Golgi-Cox) de neuronas piramidales de la capa II del cíngulo anterior, capa III de la corteza prefrontal medial y neuronas multipolares de la amígdala basolateral en los días 4 y 12 de lactancia. En el grupo desnutrido, las madres F0 recibieron diferentes porcentajes de una dieta balanceada. Después del parto, las crías desnutridas (F1) continuaron su desnutrición permaneciendo 12 h con una madre ligada de sus pezones, y 12 h con una nodriza lactante normal. El destete fue a los 25 días de edad seguido de dieta a libre demanda hasta los 90 días de edad cuando se probaron como madres. Las madres desnutridas mostraron reducciones significativas en sus pesos corporal y cerebral, ejes corporales, memoria de trabajo, construcción del nido y prolongadas latencias de acarreo alterado de las crías. Estas alteraciones concurren con reducciones significativas en el área de sección y perímetros de los somas neuronales, la densidad de espinas y los cruces dendríticos de neuronas del cíngulo y corteza prefrontal medial, con menores efectos en las neuronas amigdalinas. Los hallazgos sugieren que funcionalmente concurren diferentes tipos de organización postsináptica, que pueden afectar los estadios de excitabilidad neuronal para la integración y codificación de estímulos que modulan las respuestas maternas alteradas de las ratas con desnutrición temprana.

ABSTRACT

The maternal response is a part of an ancient behavioral repertoire elicited by specific multisensory inputs widely integrated in a complex forebrain, limbic and brain stem network to satisfy the basic needs of the progeny. Early undernutrition interferes with the morphofunctional organization of the brain, including the maternal circuitry. The late-emerging effects of pre- and neonatal undernutrition on nest building and pup retrieval by lactating Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were correlated with dendritic arbor and perikaryon measurements (Golgi-Cox) in layer II pyramidal neurons of the anterior cingulate cortex, layer III pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex and multipolar basolateral amygdala neurons examined on lactation days 4 and 12. In the underfed group, pregnant F0 dams received different percentages of a balanced diet. After birth, prenatally underfed (F1) pups continued the undernutrition by remaining with a nipple-ligated mother for 12 h and 12 h with a normally lactating rat. Weaning occurred at 25 days of age, and pups were subsequently provided with an *ad libitum* diet. At 90 days of age, F1 dams were maternally tested. Early underfed dams showed significant reductions in body and brain weights, physical parameters, working memory, nest building and prolonged retrieval latencies for grasping pups by inappropriate body areas. These physical and behavioral alterations were concurrent with highly significant reductions in the somatic cross-sectional area and perimeter, spine density and dendritic crossings of cingulate cells and medial prefrontal cortical pyramids, as well as with smaller effects on amygdala neurons. The anatomical findings suggest different postsynaptic organizations that may affect the neuronal excitability stages for the integration and encoding of cues triggering the altered maternal responses of early underfed mothers.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Introducción y planteamiento del problema

La desnutrición es un cuadro nosológico complejo causado por la ingesta inadecuada en la calidad y cantidad de alimento, que hoy día constituye un gran problema de salud mundial. Las deficiencias en la nutrición son un tema relevante de salud pública que ha cobrado gran importancia en los últimos años por sus efectos nocivos en el desempeño social, la actividad intelectual y en el origen de algunas enfermedades mentales. Según la Encuesta Nacional de Salud Familiar (ENSANUT, 2012), se estima que 19 millones de niños menores de 5 años sufren desnutrición y de éstos, más de 150,000 niñas y niños padecen la desnutrición de manera crónica y severa.

En México, la desnutrición ocurrida durante los periodos prenatal y neonatal (DPP) afecta a 1.8 millones de niños menores de cinco años, siendo entonces un tema de salud pública de atención inmediata, pues dicha condición se relaciona con efectos negativos en el desarrollo físico y conductual de los infantes (Rice & Barone, 2000). Por otro lado, es un factor de riesgo para el desarrollo cognitivo y de enfermedades mentales, como la esquizofrenia, depresión, y Trastorno por Déficit de Atención con Hiperactividad (TDAH) entre otras patologías.

El cerebro inmaduro cambia con el transcurso del tiempo, especialmente durante etapas que son críticas para su organización estructural y funcional, debido a que el tejido cerebral en desarrollo es vulnerable a factores epigenéticos que modulan su ensamblaje y funcionalidad. La vulnerabilidad depende de su concurrencia temporal con procesos citogenéticos (neurogénesis, migración, sinaptogénesis, mielinización, gliogénesis, etc.) que están ocurriendo en diferentes partes del cerebro (Rice & Barone, 2000). La nutrición tiene un papel relevante en el desarrollo anatómico y la expresión de las funciones plásticas cerebrales tanto en el corto como en el largo plazo, como lo son diversos procesos cognitivos incluyendo a la conducta maternal (Colombo, 2006; Kristal, 2009; Modgil et al., 2014).

Normalmente la madre gestante y lactante sufre cambios importantes en su organismo, principalmente en su cerebro, mediante modificaciones de las características morfológicas y funcionales de los relevos sinápticos que forman parte de circuitos neuronales y están involucrados a su vez en el funcionamiento diferente de estructuras cerebrales específicas, así como de órganos efectores periféricos, conforme transcurre el proceso de maduración cerebral. Estos cambios inicialmente son dependientes de la activación temprana de genes, de hormonas y después de los estímulos sensoriales específicos generados por las crías, que son esenciales para promover cambios conductuales que le permitan a la madre enfrentar las demandas y el cuidado de la progenie que hagan posible su supervivencia en el medio ambiente (Afonso et al., 2007; Kinsley & Meyer, 2010; Leuner & Gould, 2010; Pilyoung et al., 2010; Nishitani et al., 2014).

La DPP provoca alteraciones notorias en el circuito neuronal que regula durante la etapa adulta varias funciones cognitivas que incluyen importantemente a la respuesta maternal. Así, la deficiencia en el cuidado materno (vgr. en el acarreo, lamido corporal, construcción del nido, postura cifótica, etc.) impacta negativamente el desarrollo de la progenie y su desempeño funcional posterior (Escobar & Salas, 1993; Salas et al., 2002; Salcedo et al., 2018). De lo anterior, se denota la importancia del diseño de modelos animales para investigar los mecanismos del daño provocado al tejido cerebral por la restricción de componentes del alimento, de su deficiente funcionalidad, y la posible rehabilitación.

En el presente estudio, utilizando el modelo de la rata desnutrida en la vida temprana se analizarán las alteraciones en la organización neuronal, la activación de varios relevos que integran la respuesta maternal, y su impacto sobre el desarrollo de la progenie. Los cambios plásticos cerebrales asociados a la desnutrición lamentablemente son poco conocidos, y su análisis abre una amplia brecha para investigar los posibles mecanismos responsables de su deterioro, las posibilidades de su rehabilitación y su relevancia como factor de riesgo para el desarrollo social e intelectual en el largo plazo.

2. ANTECEDENTES

2.1 Nutrición

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés) la nutrición se refiere a la ingesta de alimentos en relación con las necesidades dietéticas del organismo, a través de la digestión, absorción, transporte y utilización de sustancias alimenticias en función de un desarrollo óptimo del organismo, adaptado a las demandas del medio ambiente. Una adecuada nutrición durante el ciclo de la vida es además un factor protector en el largo plazo contra las enfermedades crónicas degenerativas. Por otro lado, una dieta poco balanceada se ha relacionado con la presencia de cáncer, enfermedades cardiovasculares y diabetes. Así, en un contexto más amplio se considera que la dieta y la nutrición son importantes para promover y mantener la buena salud de la población (WHO, 2018).

La adecuada nutrición comprende la ingesta balanceada de macro y micronutrientes, es decir, que exista proporción entre la cantidad y calidad de los carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas y microelementos que ingiere el individuo lo que lleva a que éste satisfaga sus actividades biológicas y fisiológicas que garanticen su supervivencia (Morgane et al., 1993).

La nutrición adecuada durante la gestación y en etapas tempranas de la vida es primordial para que el desarrollo corporal de la madre y sus crías puedan disponer de una buena salud. Así, la adecuada alimentación de la madre durante la gestación y lactancia serán determinantes para la salud futura de la progenie. Está bien establecido que las necesidades nutricionales se incrementan durante la gestación, por las demandas del crecimiento de sus fetos y la preparación orgánica y funcional de la madre para la lactancia. La etapa embrionaria y fetal son periodos delicados para el desarrollo intrauterino, donde la donde la deficiencia de algún(os) nutrimento(s) puede afectar el crecimiento fetal y tener consecuencias en el desempeño de las actividades de su vida futura (Brown & Guthrie, 1968).

2.2 Malnutrición

La malnutrición es el desequilibrio en la composición de los nutrientes de la dieta que el cuerpo necesita y que recibe a través de los alimentos. Por lo tanto, también incluye a la sobrealimentación (consumo de exceso de calorías o de cualquier nutriente específico como proteínas, grasas, vitaminas, minerales, u otro suplemento dietético), así como la ingesta deficiente de alguno de ellos.

Hay dos tipos de malnutrición;

- Proteico-energética; comprende la deficiencia o exceso en la ingesta de proteínas.
- Micro-malnutrición; se refiere a la deficiencia o exceso en la ingesta de vitaminas y/o minerales.

2.3 Desnutrición

La desnutrición se define como la condición patológica inespecífica y sistémica que resulta de la deficiente utilización de los nutrientes por las células del organismo, que se asocia a la deficiencia en la ingestión de los nutrientes de la dieta afectando directamente el desarrollo del individuo (Márquez-González et al., 2012).

La desnutrición puede manifestarse por las alteraciones dependientes de tres mecanismos generales:

Deficiente aporte energético (ingesta inadecuada en calidad o cantidad)

1. Alteración en la absorción
2. Catabolismo exagerado
3. Exceso en la excreción

La causa de la desnutrición es multifactorial, y determinar sus orígenes implica el reconocimiento tanto de alteraciones individuales, como del entorno social y sanitario en el que el sujeto se desempeña. De esta manera podrían reconocerse las siguientes causas:

- Dietas inadecuadas: deficiencias en la cantidad y la calidad de los alimentos.
- Enfermedades: infecciones del tracto respiratorio, digestivo, parasitarias, y virales entre otras.
- Sociales: pobreza, insalubridad, conflictos armados, desastres naturales, y baja escolaridad como las más frecuentes.

2.3.1 Grados de desnutrición

Se puede considerar como desnutrición a la pérdida anormal de peso del organismo, desde la más ligera hasta la más grave.

Se puede clasificar a la desnutrición por grados de su deterioro: A la pérdida de peso corporal que no pase del 25% se le considera de primer grado; de segundo grado cuando la pérdida es entre 25 y 40% y desnutrición de tercer grado a la pérdida de peso más allá del 40%. Los datos se expresan en relación al peso corporal que se debería de tener según la edad (Márquez-González et al., 2012).

Derivadas de la desnutrición se encuentran patologías que resultan de los efectos de largos periodos de insuficiente alimentación:

- El marasmo es una severa deficiencia de calorías y proteínas. Se desarrolla en los bebés y niños muy pequeños. Por lo general resulta en la pérdida de peso y deshidratación. La lactancia materna usualmente protege contra el marasmo. La inanición es la forma más extrema de marasmo, siendo el resultado de la falta parcial o total de nutrimentos esenciales durante un periodo prolongado.
- El kwashiorkor es una deficiencia grave más de proteínas que de calorías, de frecuencia menor que el marasmo que se distribuye en áreas con gran pobreza en el mundo, donde los alimentos básicos y aquellos utilizados para destetar a los bebés tienen deficiencias del contenido de proteínas, pero suficientes calorías a través del consumo principalmente de carbohidratos.

- Las personas con kwashiorkor retienen líquido en sus tejidos, y a la exploración clínica tienen edema extenso y muestran crecimiento variable del abdomen por la retención de líquido (ascitis) en su cavidad.

2.3.2 Epidemiología de la desnutrición

La WHO, en el año 2010 publicó el Índice Global de Hambre, esta herramienta toma en cuenta tres indicadores: la proporción de personas desnutridas, el peso de niños y niñas para la edad con la que cuentan, y la mortalidad infantil en niños menores de 5 años. Los datos relevantes fueron que en las regiones sudamericanas donde la hambrina había disminuido en un 14%, contrastaba con la zona correspondiente al continente africano donde ésta se había incrementado en un 33%. Estos datos están acordes con los resultados que se proporcionaron en el año 2011 en las Estadísticas Sanitarias Mundiales y de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) la población humana ubicada por debajo del nivel mínimo de consumo energético alimentario se localiza con diferentes porcentajes en diversas regiones del mundo. Así en la siguiente figura se muestra el porcentaje de la población cuya ingesta de alimentos no es suficiente para satisfacer sus requisitos alimentarios de energía de manera continua, y es a su vez un indicador de prevalencia de desnutrición (Figura 1).

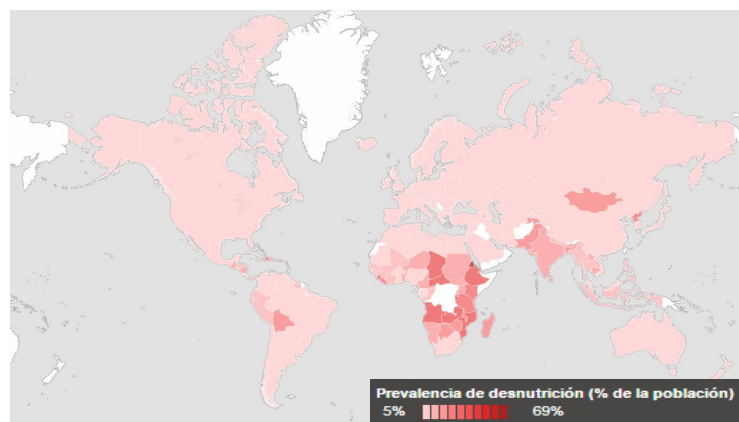


Figura 1. Prevalencia de desnutrición en la población mundial (The World bank, 2014).

Se estima que 178 millones de niños menores de cinco años en el mundo sufren de desnutrición crónica, siendo principalmente este factor el causante de la muerte de 3.5 millones de estos menores (Black, et al., 2008).

En México, así como a nivel mundial, la desnutrición es un problema de salud pública grave, siendo la región del sureste del país la más afectada por esta patología. En un grupo de edad entre los 5 y 14 años la desnutrición crónica alcanzó un porcentaje del 7.25 %, hablando de zonas urbanas, mientras que en las zonas rurales esta cifra se duplicó según el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF, 2014).

2.3.3 Desnutrición gestacional

Las mujeres en edad reproductiva tienen un gran riesgo de sufrir desnutrición, principalmente durante la gestación donde las demandas nutricionales de esta población se incrementan considerablemente. La desnutrición durante la gestación cuando las demandas nutricionales, se aumenta el riesgo para la mortalidad y la propensión para tener hijos desnutridos. La disponibilidad adecuada de alimentos en esta etapa del embarazo puede decirse que es el factor epigenético que tiene mayor influencia en el desarrollo fetal, ya que el paso de nutrimentos por la placenta es fundamental para la captura de materiales esenciales para la nutrición del feto. La nutrición prenatal es de suma importancia para el desarrollo metabólico y fisiológico del feto, ya que los cambios en la homeostasis de los componentes de la placenta pueden alterar el crecimiento y el desarrollo fetal (Belkacemi et al., 2010).

Las mujeres con un índice de masa corporal bajo antes del embarazo tienen mayor riesgo de tener partos prematuros y retraso en el crecimiento intrauterino (Integrative Medicine Report, 2010). La nutrición y la oxigenación óptimas durante la gestación son indispensables para el crecimiento y desarrollo de los órganos fetales, y para prevenir la inmadurez cerebral y otros problemas del desarrollo. Hoy día en México asociado al bajo índice de masa corporal, se suma el que la gestación ya es frecuente en niñas menores de edad que inician su etapa reproductiva en la infancia tardía y durante la adolescencia, lo cual multiplica los riesgos de tener un

bebé con gran inmadurez y daño cerebral irreparable al nacimiento (Black et al., 2008).

2.3.4 Desnutrición Infantil

Se denomina desnutrición infantil al estado patológico ocasionado por la falta de ingestión o absorción de nutrimentos durante la etapa comprendida entre los 1 y los 12 años de vida. Estudios diversos muestran que los niños que sufrieron desnutrición en sus primeros dos años de vida tienen daños irreversibles, como las enfermedades crónicas relacionadas con el metabolismo y la nutrición. Estos mismos padecimientos son para individuos que tuvieron pobre crecimiento fetal a causa de alimentación materna deficiente.

Diversos estudios han confirmado que el consumo deficiente de alimento en periodos determinantes del desarrollo, como lo es la etapa intrauterina y los primeros 5 años de edad, tiene efectos adversos en el crecimiento cerebral, el desarrollo sensorial y la presencia de enfermedades infecciosas (Brennan et al., 2005; Morgan & Naismith, 1982; Salas et al., 2002).

Los efectos de la desnutrición, también se han reconocido en un estudio que se hizo a hombres y mujeres nacidos durante la hambruna que se presentó en Holanda en 1944 durante la invasión por el ejército alemán. El seguimiento médico y nutricional de esta población humana mostró que la desnutrición en cualquier etapa de la gestación está vinculada con la disminución a la tolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina y desarrollo temprano de esquizofrenia (Ravelli et al., 1998). También se observaron efectos transgeneracionales en el peso al nacer, es decir, las mujeres que habían sido desnutridas severamente en el primer trimestre del embarazo dieron a luz a hijos con peso normal, pero esos niños y niñas tuvieron hijos más pequeños en la siguiente generación. Dada la relevancia de estas alteraciones que aún continúan repitiéndose por diferentes causas en las sociedades humanas, actualmente continúan siendo motivo de investigación.

2. 4 Efectos de la desnutrición

2.4.1 Efectos de la desnutrición en el crecimiento, órganos periféricos y metabolismo

Se ha observado que los hijos de madres que tuvieron alimentación deficiente de proteínas durante la gestación y lactancia son más chicos en talla que los de las madres en condiciones adecuadas de alimentación, además de que estos niños tuvieron retraso en su desarrollo cerebral. La desnutrición en la vida temprana puede impedir la división celular, el crecimiento de los órganos y la diferenciación neuronal los cuales se conoce tienen un carácter irreversible en el largo plazo (Rhind, et al., 2001).

Las condiciones intrauterinas dependientes del contexto del medio interno programan la salud y la aparición de enfermedades en etapas futuras. De esta manera, diversos estudios epidemiológicos en los seres humanos y de modelos animales han mostrado que eventos de deficiencia alimentaria en la vida temprana tienen influencia negativa en el largo plazo (Desai & Hales, 1997; Belkacemi et al., 2010). Es decir, no sólo se afecta el crecimiento y el desarrollo de los órganos del feto, sino que también lo predispone para una amplia gama de enfermedades que afectan la calidad de la salud en etapas posteriores de la vida.

2.4.2 Efectos de la desnutrición en el Sistema Nervioso Central

El estudio de los efectos de la desnutrición en diversos modelos animales ha mostrado las alteraciones de la arquitectura neuronal del feto, específicamente en la zona subventricular, una región de gran importancia para la neurogénesis y punto de partida para la migración de células nerviosas hacia zonas cerebrales específicas. Durante el periodo gestacional, el cerebro fetal pasa por diversas adaptaciones y periodos de gran vulnerabilidad (periodos críticos), a los efectos de una gran variedad de factores asociados a la desnutrición sobre procesos como la

proliferación neuronal, maduración de células gliales y la neurogénesis (Giussani, 2011).

Las deficiencias en los micronutrientos en la etapa prenatal están vinculadas con defectos en la formación del tubo neural y el desarrollo de cretinismo (deficiencia congénita de la glándula tiroides). Asimismo, se sabe que las deficiencias en el consumo proteínico, pueden dar lugar a diversas alteraciones en el desarrollo de diversas estructuras cerebrales, así como en la liberación y las acciones de neurotransmisores tales como la dopamina y la serotonina (Brown et al., 2000).

Las alteraciones fisiológicas y metabólicas asociadas a la desnutrición han sido ampliamente estudiadas, pero las consecuencias negativas de esta condición sobre el comportamiento madre-crías no se han esclarecido con amplitud. Se ha propuesto que tienen repercusiones morfológicas y funcionales que aún son desconocidas y que ameritan mayor investigación. Por ejemplo, las investigaciones sobre los efectos de la desnutrición sobre la expresión genética en etapas tempranas de la gestación y la lactancia, que afectan la estructura cerebral de la madre y modifican la expresión de su comportamiento maternal el cual repercute en el desarrollo de la progenie. Asimismo, los efectos transgeneracionales de la restricción temprana de alimento, de los cuales poco sabemos y que seguramente tienen gran relevancia social, intelectual, cultural y económica.

Los mecanismos por los que la desnutrición afecta el desarrollo morfológico y funcional se han estudiado de acuerdo con diferentes propuestas, una de ellas es alguna afectación del sistema serotoninérgico. En otras investigaciones se reportó que la alteración de este sistema está relacionada con las deficiencias cognitivas que se presentan en las etapas posteriores de la vida. De la misma forma, se ha observado que la desnutrición en etapas tempranas tiene efectos en el desarrollo del cerebro, y que una de esas estructuras afectadas es el hipocampo (Ishimura et al., 1989).

Esta observación se ha fortalecido con base a diferentes estudios en modelos animales, y utilizando diversos paradigmas que evalúan las capacidades de en la

ejecución de tareas de aprendizaje y memoria visuales y espaciales en las que participa el hipocampo. Así, ratas sometidas a períodos de desnutrición temprana mostraron menor eficiencia en la ejecución de tareas de aprendizaje y memoria espacial en el laberinto de ocho brazos (Olton) o en el laberinto acuático de Morris (Galler et al., 1991; Bedi, 1994).

En los seres humanos se ha identificado como periodo vulnerable del desarrollo a los primeros 1000 días postparto, es decir el periodo de lactancia y los primeros tres años, que se han asociado con déficit cerebral y en la expresión de diferentes respuestas conductuales. Estos resultados se han obtenido tras el estudio epidemiológico en seres humanos después de periodos de hambrunas que han pasado a lo largo de la historia por diferentes causas (Huang et al., 2013). Este tipo de estudios da la oportunidad de analizar e identificar las consecuencias de la desnutrición temprana, en la etapa adulta, que van desde efectos en la cognición hasta sus consecuencias en la salud mental. La desnutrición causada por periodos de hambruna se ha vinculado con el incremento del riesgo a desarrollar enfermedades mentales, siendo una de las más estudiadas la esquizofrenia (Morris et al., 2008; Victora et al., 2008).

2.5 Conducta maternal

Con respecto al grado de desarrollo que tienen los recién nacidos de diferentes especies de mamíferos, éstos se clasifican en precociales y altriciales. Los primeros nacen con un notable grado de desarrollo sensorial, motor y homeostático que les permite en el curso de los primeros minutos u horas de su nacimiento, poder erguirse en cuatro patas, reconocer olfatoriamente a la madre y comunicarse con ella para desplazarse caminando y siguiendo al resto de sus congéneres. Su visión está bastante desarrollada ya que reconocen a la madre y la región peri mamaria para la succión, pueden oír y emitir vocalizaciones para el diálogo con las madres y son capaces de regular bastante bien sus habilidades motoras, succionar y controlar su temperatura y la expulsión de sus excretas.

Por el contrario, las especies altriciales entre las que se incluye a los roedores y a los seres humanos nacen con un grado importante de inmadurez. Por ejemplo, las ratas tienen sus párpados y oídos sellados por membranas con limitadas funciones. Tienen gran inmadurez motora e incoordinación de movimientos. Solo son capaces de realizar movimientos de lateralidad de la cabeza para detectar por el tacto y el olfato la presencia de la región peri mamaria para succionar. La marcha y el salto están ausentes y solo las crías se arrastran por trayectos cortos sin aparente propósito. Son incapaces de regular su temperatura, de generar calor y de eliminar sus excretas sino es con la ayuda materna (Brouette-Lahlou, Vernet-Maury, & Vigouroux, 1992). Con el propósito de compensar esta notable inmadurez, los recién nacidos requieren de la asistencia materna, mediante la expresión de distintos componentes conductuales integrados en la respuesta maternal que permiten la protección, alimentación y promoción del desarrollo de los neonatos (Alberts & Cramer, 2009; Kristal, 2009; Rosenblatt, et al., 1988).

El desarrollo de la conducta maternal en la rata va acorde con las demandas que tiene la madre desde antes del nacimiento de sus crías, por ejemplo, preparan sus nidos desde la gestación para tener el espacio óptimo y seguro para la protección y lactancia. Esta conducta es un proceso gradual, en el cual la madre va perfeccionando sus nidos y este comportamiento va mejorando hasta el parto dando lugar a una mejor calidad de éstos y adaptándolos a las necesidades de las crías.

La madre tiene comportamientos específicos que garantizan la seguridad y supervivencia de sus recién nacidos, a través de sus cuidados, la estimulación sensorial (lamidos, estímulos de contacto, calor, olores, ingesta láctea, acústicos) que les da, la limpieza y la protección en el nido. Estos comportamientos pueden dividirse en dos tipos: los que implican actividad motora y los que necesitan que la madre se mantenga inmóvil (Cummings et al., 2010). La primera está compuesta por el acarreo, construcción del nido y el lamido corporal y de la región anogenital; y la segunda es la alimentación, que se lleva a cabo de manera adecuada a través de la posición cifótica, alta o baja, que la madre presenta para la succión (Salcedo et al., 2018; Stern & Lonstein, 2001).

2.5.1 Hormonas y la respuesta maternal

Los cambios en la respuesta maternal durante la última parte de la gestación aumentan bruscamente en las primeras horas después del parto, esto se logra a través de la estimulación de diversas secreciones hormonales. Diversas hormonas, entre las que destacan la progesterona, los estrógenos, la prolactina y la oxitocina (Rosenblatt et al., 1988), están involucradas en las respuestas de diferentes órganos, relacionadas con la gestación y la conducta maternal. Así, se han descrito variaciones en dichas respuestas dependientes de cambios en la secreción, concentraciones plasmáticas y acciones de estas hormonas en diferentes órganos durante la gestación y en el período postnatal.

En la rata, las concentraciones de progesterona se incrementan durante la primera etapa del embarazo, la secreción comienza a partir del día gestacional (G) 16 y desciende alrededor del día G21. Ayuda a la adaptación del sistema materno-fetal al inducir cambios directos sobre blancos maternos específicos, induce la proliferación, diferenciación y decidualización de las células del endometrio creando un ambiente propicio para el proceso de la implantación del huevo (Rosenblatt et al, 1988; Fleming & Sarker, 1990).

Por su parte, la oxitocina se ha relacionado en muchos aspectos sociales del comportamiento de los mamíferos. En la maternidad el incremento del estradiol durante el parto produce la proliferación de receptores a oxitocina en el mioepitelio mamario y el útero, produciendo las contracciones y posteriormente la expulsión de la leche materna. Además, favorece la creación del vínculo madre-cría (Insel & Young, 2001). En el postparto, la oxitocina aumenta su expresión en diferentes áreas cerebrales como el septum lateral, área preóptica media, núcleo central de la amígdala, núcleo ventromedial del hipotálamo, núcleo accumbens, bulbo olfatorio, núcleo del lecho de la estría terminal y el área tegmental ventral (Sabihi et al., 2014). Dichas estructuras están íntimamente ligas para regular la conducta maternal (Figura 2).

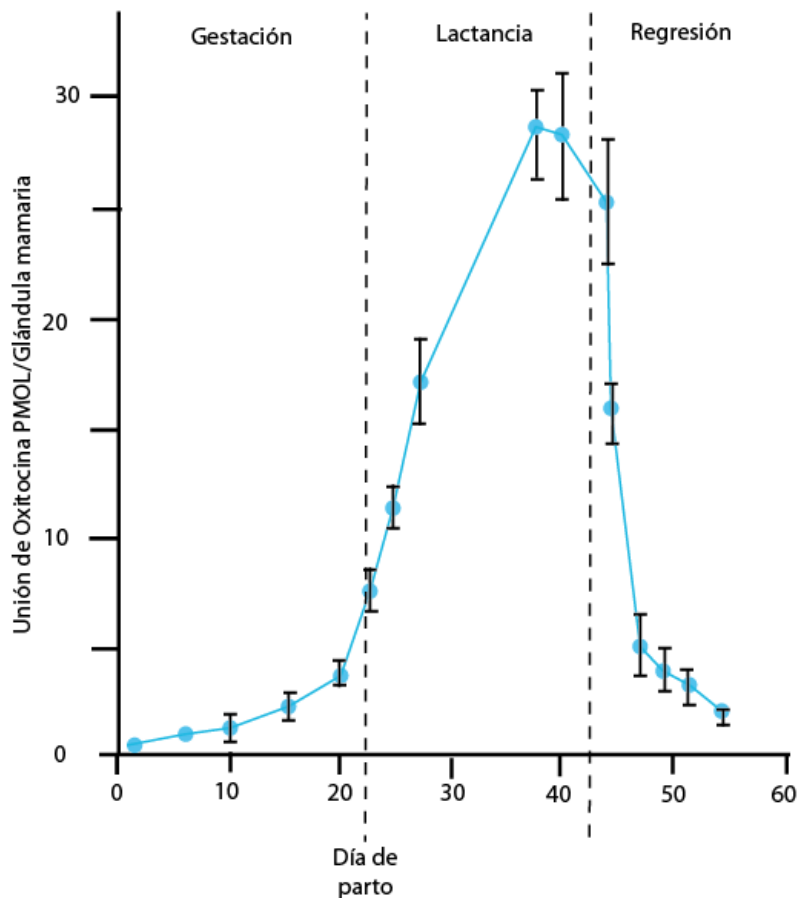


Figura 2: Se muestran los cambios en la unión de la hormona oxitocina y sus receptores en la glándula mamaria de la rata durante el curso de la gestación y lactancia (Modificado de Soloff y Wieder, 1983).

La prolactina participa en el desarrollo morfológico y funcional de la glándula mamaria, en la actividad secretora del cuerpo lúteo, su deficiencia puede afectar las funciones reproductoras de los mamíferos. Es esencial para el mantenimiento del cuerpo lúteo durante la gestación. La influencia de la prolactina en la conducta maternal ha sido estudiada ampliamente, aunque esta hormona por sí sola no genera esta conducta, si la favorece, y se le ha relacionado con la construcción del nido, el acarreo de las crías, el amamantamiento y cuidado de éstas (Escalada et al., 1996).

Las concentraciones plasmáticas de estas hormonas van cambiando durante la gestación y la lactancia, esto es de gran importancia para generar condiciones que permitan responder a las demandas provenientes de las crías durante la gestación y la etapa postnatal.

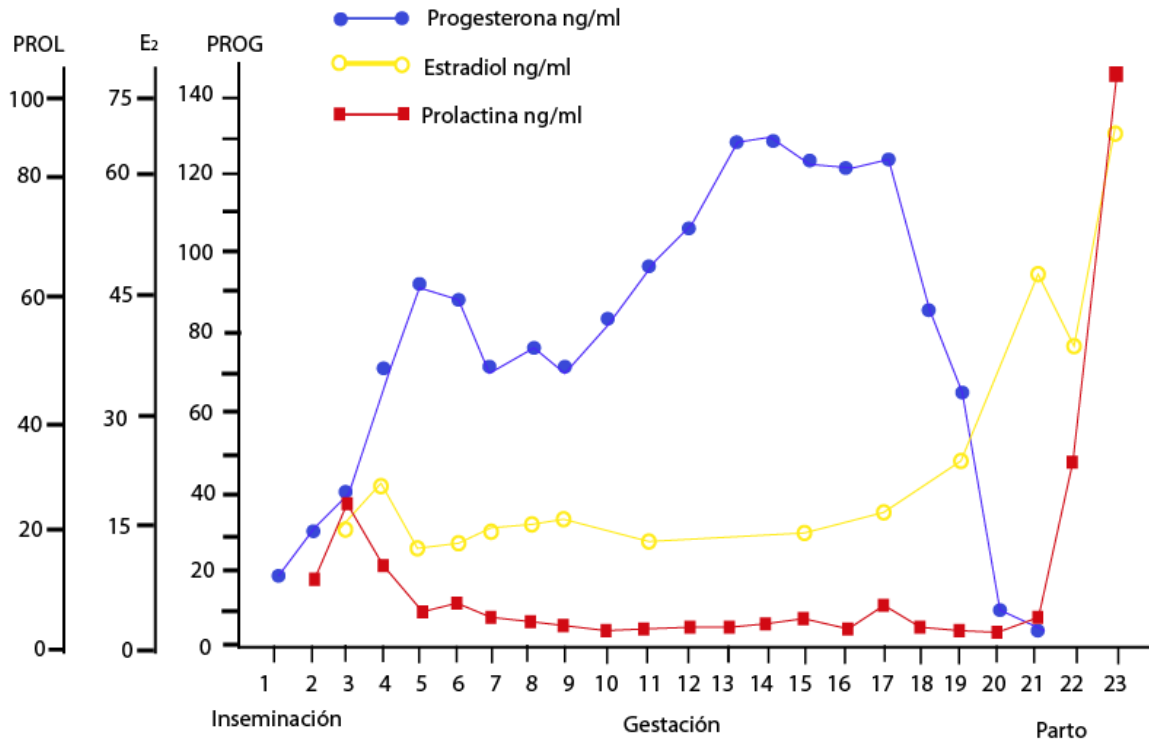


Figura 3: Concentración en plasma de hormonas durante la gestación de la rata (Modificado de Rosenblatt et al., 1979).

2.5.2 Estructuras cerebrales y conducta maternal

La maternidad lleva consigo un proceso de adaptación, donde la hembra pasa por notables alteraciones corporales y en el cerebro, que se ven manifestadas en la expresión de la conducta hacia la progenie (Lemaire et al., 2006). La plasticidad cerebral ocurrida durante la respuesta maternal requiere de diversos cambios genómicos que adaptan su estructura y función a las demandas de los neonatos.

Se ha observado que el hipocampo y otras estructuras cerebrales muestran plasticidad natural importante, tanto estructural como funcional, en términos de

cambios significativos; la lordosis de la columna vertebral debida al crecimiento del tamaño y peso del vientre por el estado reproductivo, y la reestructuración neurogenética y en las funciones y comportamientos que están vinculados a su regulación conductual (Darnaudéry et al., 2007; Salcedo et al., 2018).

Por diferentes estudios se han identificado estructuras cerebrales, neurotransmisores, genes, etc. involucrados en la conducta maternal. Así, se ha observado que una mutación de la expresión del gen *fosB* en el área preóptica media (mPOA, por sus siglas en inglés) repercute en la reducción del “amamantamiento”. La incapacidad en la respuesta materna de las ratas así dañadas (“knock out”) tuvo un marcado efecto sobre la supervivencia de la descendencia. Las deficiencias en el gen *fosB* pueden dar lugar a un menor número de receptores para la oxitocina y por consecuencia menor respuesta maternal (Brown et al., 1996).

Estudios en la mPOA y en el área ventromedial del hipotálamo, muestran la identificación de genes asociados con la transición de la condición de nulíparas a la de primíparas. De manera particular, se han descrito genes relacionados con la liberación de los neurotransmisores dopamina y GABA, que incrementan su concentración en las ratas durante su preñez (Mann, 2014).

En la mayoría de los mamíferos el sistema olfatorio es parte de la porción rostral del telencéfalo que incluye entre otras estructuras al bulbo olfatorio principal, bulbo olfatorio accesorio, núcleo olfatorio anterior y la corteza piriforme que desempeñan un papel central en diversos aspectos de la conducta reproductora. Así por ejemplo, a través de la elección de pareja, el comportamiento sexual y el comportamiento materno. (Brunjes et al., 2005). En diferentes trabajos se ha comprobado que la extirpación o daño de algunas de estas zonas lleva al no decremento de la conducta maternal, tal es el caso del bulbo olfatorio que pareciera funcionar como un interruptor de activación o desactivación de la conducta maternal, ya que al extirparse a hembras vírgenes se ha observado su sensibilización más rápida ante la exposición de crías frescas (Gonzalez-Mariscal et al., 2004). En efecto, en una hembra no embarazada el bulbo olfatorio opera evitando el contacto

con las crías, pero después de su lesión, hay acercamientos y contactos con ellas. En cambio, después del parto, la madre normalmente tiene contacto estrecho con sus neonatos y la lesión del bulbo olfativo incrementa la expresión de la respuesta maternal (Fleming & Rosenblatt, 1974). Ver cuadro 1 para más información de diversas lesiones cerebrales y sus efectos sobre la respuesta maternal.

Tabla 1. Evidencias experimentales obtenidas por varios autores en la expresión de la conducta maternal por la lesión de estructuras del circuito maternal.

AUTOR	FUENTE	ESTRUCTURA LESIONADA	HALLAZGOS
(Fleming, Vaccarino, & Luebke, 1980)	Physiology & Behavior	Amígdala	La lesión amigdalina facilita la aparición de la CM en hembras vírgenes.
(Numan et al., 2010)	Behavioural Brain Research y J Neuroscience	Amígdala basolateral (BLA), y basomedial (BMA)	Inyecciones de muscimol en BLA/BMA afectan el acarreo, más no el amamantamiento, Se afecta la acción para la CM, más no la respuesta consumatoria.
(Slotnick, 1967)	Behaviour	Cíngulo	El daño al cíngulo anterior y posterior altera el lamido y acarreo de las crías.
(Slotnick & Nigrosh, 1975)	Journal of Comparative and Physiological Psychology	Amígdala (BLA), septum, y cíngulo	Ratones con lesiones neocorticales o amigdalinas alteran poco la CM. Las lesiones septales dañan severamente la construcción del nido y el acarreo de las crías. La lesión del cíngulo lentifica el acarreo de crías.
(Jacobson, Terkel, Gorski, & Sawyer, 1980)	Brain Research	Área preóptica media (MPOA)	Lesiones bilaterales en la mPOA eliminan la construcción del nido y el acarreo de crías, sin alterar el amamantamiento.
(Lonstein & Stern, 1997)	The Journal of Neuroscience	Área gris periacueductal (PAG)	La PAG regula la respuesta reproductiva, defensiva-agresiva y el control de la postura cifótica para el amamantamiento.

(Stamm, 1955)	Journal of comparative and Physiological Psychology	Corteza cerebral medial	Se afecta el número de acarreo sin alterar la aparición, latencia, o la velocidad de éstos.
(Stern & Kolunie, 1991)	Behavioral Neuroscience	Trigeminal	Se afectan significativamente, la agresión, los reflejos somatosensoriales y el acarreo.
(Murphy, MacLean, & Hamilton, 1981)	Science	Neocorteza	Deficiencias en la CM y el desarrollo del juego.
(Numan, Morrell, & Pfaff, 1985)	The Journal of Comparative Neurology	Hipotálamo	El daño en la zona dorsal interrumpe severamente la CM. La zona ventral sin efectos. El circuito mPOA-Área preóptica lateral (LPOA) y Área tegmental ventral (VTA) son relevantes para la CM.
(Fleischer & Slotnick, 1978)	Physiology & Behavior	Septum	Se interrumpe la construcción del nido, el amamantamiento con alteraciones en el acarreo de crías.
(Afonso et al., 2007)	Behavioral Neuroscience	Corteza prefrontal medial	No elimina la CM, pero ésta se manifiesta desorganizada.

2.5.3 Cambios plásticos durante la gestación y lactancia

Las hembras pasan un proceso de transición durante la maternidad que se da a diferentes niveles de organización. Así, la transformación hacia el cerebro materno para la crianza comienza con el embarazo y las interacciones gen-hormonas. Se ha mencionado que esos genes expresados durante la reproducción, concurren en los seres vivos de este planeta, posiblemente por dos factores que son la adquisición de recursos (alimentación y conductas relacionadas) y la reproducción (Kinsley et al., 2011).

Hay una serie de adaptaciones necesarias para que la madre pueda responder a las demandas de la progenie (Champagne & Curley, 2009), además de la protección a los cambios propios con los que la maternidad acontece:

- Conductuales: sistemas del estrés / ansiedad, aprendizaje y la memoria y agresión

- Neuronal: modificaciones básicas gliales para proteger el cerebro de la hembra del daño y el trauma.

2.6 Memoria, aprendizaje y su evaluación

2.6.1 La alternancia espontánea: es uno de los modelos experimentales más empleados para el estudio de los procesos de la memoria de trabajo y del aprendizaje.

La alternancia espontánea (AE) se considera como un comportamiento natural de los individuos de diferentes especies para su adaptación ante un ambiente novedoso. Así, se ha utilizado para medir la capacidad exploratoria de roedores entre otros animales; además lleva implícita la capacidad de recordar un espacio ya visitado, es decir, la memoria del evento previamente ocurrido (Richman et al., 1986).

La alternancia refleja la motivación del animal para explorar el ambiente, reconociéndose a esta respuesta como "alternancia espontánea". La frecuencia típica de alternancia en las ratas es de entre el 75% y el 90%. Asimismo, es una prueba muy sensible a los estímulos ambientales con valor consistente para la detección de alteraciones en las respuestas cognitivas (Lalonde, 2002).

2.6.2 Estructuras cerebrales involucradas

Son muchas las estructuras cerebrales involucradas (corteza prefrontal, cíngulo, amígdala, hipocampo) en el proceso de AE y entre ellas la más relevante es la corteza prefrontal, cuya lesión electrolítica en la rata, provoca menor número de alternancias en comparación con los sujetos del grupo testigo.

Se han relacionado también estos resultados, con la neofobia que experimentan normalmente los sujetos hacia estímulos del ambiente exterior como posible causa de la afectación en la AE. Así, en la rata lesionada de la corteza prefrontal se observó utilizando el laberinto en T, marcado déficit en la AE, posiblemente por alteración en la memoria de trabajo. Sin embargo, se mostró que

si el daño es solamente en el cíngulo, ya sea posterior o anterior, la afectación funcional es menor o quizás menos observable (Lalonde, 2002).

2.6.3 Evaluación del aprendizaje y la memoria (alternancia espontánea)

Laberinto en T

El laberinto en T ha sido utilizado para evaluar diferentes medidas de las funciones cognitivas y habilidades en animales de experimentación. La tendencia natural de los animales es a explorar el ambiente exterior, alternado el ingreso a los brazos del dispositivo en cada uno de los ensayos (Deacon & Rawlins, 2006).

Laberinto radial de ocho brazos

Olton y Samuel desarrollaron el laberinto radial de ocho brazos, que se ha utilizado experimentalmente en ratas y ratones para evaluar la memoria de trabajo. El aparato consta de ocho brazos idénticos, los cuales parten de un área central del dispositivo (Dudchenko, 2004).

Antes de la prueba, se coloca un recipiente con alimento al final de cada brazo del laberinto. Para la evaluación se entrena a los animales para que recorran el laberinto en busca de un reforzador. El deterioro en el desempeño operativo luego de lesionar estructuras críticas del circuito neuronal que integran la cognición, se interpreta como una alteración en la integración de la memoria de trabajo o de la memoria declarativa (Brown & Giumetti, 2006; Penley et al., 2013).

4. MÉTODO

La desnutrición en etapas tempranas puede afectar gravemente el desarrollo físico, con consecuencias en la consolidación del organismo como en la conducta que pueden manifestarse incluso en el largo plazo. Una conducta de gran importancia es el comportamiento materno del cual se sabe que se desprenden diferentes psicopatologías, al tener deficiencias en él. De lo anterior, se identifica la importancia de conocer los mecanismos involucrados en ambos procesos, específicamente de las alteraciones en la conducta maternal por la DPP, por lo cual se planteó el siguiente método para su investigación:

3.1 Pregunta de investigación

¿Los cambios en la conectividad neuronal y la función de áreas cerebrales que regulan funciones cognitivas como la conducta maternal de la rata, son afectados por la DPP?

3.2 Objetivo general

Analizar la plasticidad neuronal de estructuras que regulan la conducta maternal de ratas con DPP.

3.2.1 Objetivos específicos

- 1) Cuantificar en ratas con DPP las alteraciones en el acarreo de crías y la construcción del nido en los días 4 y 12 de lactancia.
- 2) En ratas con DPP analizar las alteraciones de los árboles dendríticos, espinas y soma de neuronas de la corteza prefrontal medial (mPFC), el cíngulo anterior (AC) y la amígdala basolateral (BLA) en los días 4 y 12 de lactancia.
- 3) En ratas adultas (100 días de edad) con antecedente de DPP evaluar la memoria de trabajo y la discriminación viso espacial (alternancia espontánea) en un laberinto en T.

3.3 Hipótesis

1.-La DPP en la rata adulta lactante afecta la expresión en el acarreo de las crías y/o la construcción del nido, debido al daño neuronal y funcional de la mPFC, el AC y/o la BLA.

2.-Si la DPP interfiere con el desarrollo de estructuras del cerebro anterior (mPFC, AC y/o BLA), entonces habrá alteraciones en la expresión de los procesos cognitivos como la eficiencia maternal.

Para la verificación de las hipótesis y objetivos experimentales que se plantean, se tomarán en cuenta las siguientes variables, procedimientos, parámetros y estrategias experimentales que se describen a continuación.

3.4 Variables

3.4.1 Variables independientes

Desnutrición perinatal

Concepto: Cuadro nosológico causado por la ingesta inadecuada en la calidad y cantidad de alimento durante la gestación y la lactancia (UNICEF, 2006). Según el índice de masa corporal (IMC) se considera como desnutrición grado 1 cuando se cuenta con un IMC <18.5, desnutrición grado 2 con un IMC<17 y desnutrición grado 3 con un IMC<16.

Somatometría: Es la técnica que se refiere a la medición del peso, talla e índice de masa corporal y medición de diversos diámetros corporales.

Análisis estadístico de los datos: Las diferencias de peso y la talla corporal entre las crías del grupo control y DPP se analizaron con un Análisis de Varianza (ANOVA) de 3 vías, Nutrición (2) x Sexo (2) x Edad (19). Para todas las pruebas se tomó como significativa la diferencia cuando se obtuvo un valor α de $p \leq 0.05$.

Días de lactancia

Concepto: El periodo de lactancia corresponde al periodo en el que la cría o el bebé se alimenta exclusivamente de leche materna. El tiempo de lactancia varía según la especie; en la rata el destete comúnmente se realiza en el día 25 postnatal, aunque en otros estudios se han considerado por conveniencia otras edades y condiciones según los procedimientos experimentales que se utilizaron. En el presente estudio se eligieron los días 4 y 12 postparto como días representativos de las lactancias temprana o tardía, que se dan en el caso de la rata postparto, y que dependen de mecanismos hormonales o de la estimulación sensorial de las crías respectivamente (Rosenblatt et al., 1988).

Análisis de los datos: La diferencia entre las mediciones de las muestras obtenidas en los días de lactancia 4 y 12 de los grupos experimentales se analizaron con un ANOVA de 2 vías, Nutrición (2) x Días de lactancia (2). Se tomó como significativa cuando el nivel de significancia tuvo un valor de $p \leq 0.05$.

3.4.2 Variables dependientes

Acarreo de crías

Concepto: El acarreo de crías es un componente de la conducta maternal, que por medio de diferentes estímulos por parte de las crías (olor, vocalizaciones, etc.) incitan a la aproximación de la madre, para después ésta acarrearlas al nido, como un medio de protección o para atender alguna de sus demandas básicas (Rocha et al., 2002; Esposito et al., 2013).

Se evaluó la latencia de acarreo a la primera y la quinta cría en términos de segundos (s), y la zona corporal de donde fue tomada la cría, que tiene divididas las zonas del cuerpo por las que pueden ser prendidas por la madre: 1, cabeza, 2, nuca siendo esta zona la ideal para acarrear (Brewster & Leon, 1980; Wilson et al., 2008), 3, dorso, 4, flancos, 5, abdomen, 6, cola y 7, extremidades. La latencia de acarreo fue medida utilizando las videograbaciones de 10 min, posterior a la dispersión forzada de las crías fuera del nido por el experimentador en los días 4 y 12 de lactancia.

Análisis de los datos: Las diferencias entre los grupos Control y con DPP se analizaron con un ANOVA de tres vías, Nutrición (2) X Días de lactancia (2) X Zona de acarreo (7), donde se consideró significativa una $p \leq 0.05$.

Construcción del nido

Concepto: La conducta maternal se inicia poco antes del parto con la construcción del nido, siendo esta respuesta una de las primeras manifestaciones conductuales de los cambios propios de la maternidad (Rychlink & Korda, 1989).

La evaluación del nido consistió en la asignación de una escala de valores relativos del 1 al 3; donde **3**, es para un nido redondo de 12 cm de diámetro, y de cerca de 3 cm de altura, **2**, un nido casi destruido y **1**, para un nido destruido.

Análisis de datos: Para los puntajes de clasificación de la construcción de los nidos, se utilizó una prueba U de Mann-Whitney para 2 (nutrición) y 2 (días de lactancia).

Memoria de trabajo (Alternancia espontánea)

Concepto: Se considera como un tipo de memoria de corto plazo, compuesto por un centro ejecutivo que controla funciones visoespaciales y fonológicas. Esta memoria es una capacidad cognitiva para recordar un espacio ya visitado, que permitió alternar la elección para un siguiente ensayo.

Se utilizó el laberinto en T, la prueba consistió en una sola sesión con 9 ensayos cada una, donde se tiene un tiempo máximo de 90 segundos para cada ensayo.

Análisis de datos: Las diferencias entre los puntajes obtenidos de los grupos Control y con DPP se analizaron con una ANOVA de dos vías, Nutrición (2) X Alternancia (2), donde se consideró como diferencia significativa cuando se tuvo un valor de $p \leq 0.05$.

Plasticidad neuronal

Concepto: Cambios morfológicos y fisiológicos que ocurren en el cerebro como resultado de la experiencia previa. La plasticidad puede considerarse como un mecanismo de desarrollo, crecimiento y aprendizaje (Pascual-Leone et al., 2005).

La plasticidad cerebral es el cambio morfológico y funcional del sistema nervioso central provocado por la experiencia previa.

Se utilizó la técnica de Golgi-Cox para observar y cuantificar las modificaciones ocurridas en la arquitectura neuronal asociadas a la DPP. De las preparaciones histológicas se cuantificaron los siguientes parámetros:

- **Árbol dendrítico:**

a) Órdenes dendríticos (1º, 2º, 3º, etc.), en donde las dendritas provenientes del soma fueron de primer orden, las originadas de ellas de segundo orden, y así sucesivamente.

b) Densidad dendrítica (método de Sholl de círculos concéntricos; 40 μm de separación entre cada círculo), contando en cada círculo el número de ramas

dendríticas que lo cruzaron, en un máximo de 5 a 7 círculos según el tamaño del árbol dendrítico neuronal.

c) Densidad de espinas, se contabilizó el número de espinas en segmentos de 50 μ en ramas de segundo y cuarto orden dendrítico de la región neuronal basal.

- Soma neuronal:

a) Área de sección transversal del soma en micras²

b) Perímetro somático en micras

Los parámetros del soma correlacionaron con los tipos neuronales y las condiciones de la dieta de cada grupo experimental.

Las diferencias en el orden dendrítico, densidad dendrítica y densidad de espinas de los grupos control y DPP se analizaron con una ANOVA de tres vías de medidas independientes, Nutrición (2) X Días de lactancia (2) X los Órdenes (5) o los Cruces dendríticos (7) o número de espinas en las dendritas basales (2) de los grupos neuronales. El nivel de significación se estableció cuando la probabilidad fue de $p \leq 0.05$.

Análisis de datos: Las diferencias en los valores del soma neuronal para el área y el perímetro entre los grupos Control y con DPP se analizaron con una ANOVA de dos vías de medidas independientes, Nutrición (2) X Días de lactancia (2), donde se consideró significativo el nivel de $p \leq 0.05$.

3.5 Diseño de investigación

3.5.1 Tipo de investigación

Se trata de una investigación de tipo cuasi experimental y longitudinal, ya que existen diferentes evaluaciones y mediciones durante el proceso, los grupos control y experimental no son asignados de manera aleatoria sino por grupos equivalentes que cuentan con características establecidas, además está basada en conocimientos previos y busca entender la relación entre las variables probando una hipótesis planteada.

3.5.2 Población y muestra

Conducta Maternal

- 20 hembras adultas de la cepa Wistar

10 control

10 DPP

Laberinto en T

- 20 hembras adultas de la cepa Wistar

10 control

10 DPP

3.5.3 Criterios de inclusión y exclusión

- Criterios de inclusión

Ratas nulíparas con peso entre 200 y 250 gramos (90 días de edad).

Camadas conformadas por grupos entre 8-10 crías.

Ratas provenientes de un bioterio certificado en cuanto a sus condiciones de salud, alimentación y manejo corporal.

- Criterios de exclusión

- a) Camadas donde las crías mueran o estén enfermas.
- b) Comportamiento agresivo de la madre (maltrato, canibalismo)
- c) Ratas con baja o alza de peso de más del 10% del valor promedio
- d) Ratas con enrojecimiento de la piel que revelen micosis o infecciones
- e) Ratas provenientes de bioterio no certificado
- f) Crías con daño corporal por maltrato materno

3.6 Metodología

3.6.1 Protocolos

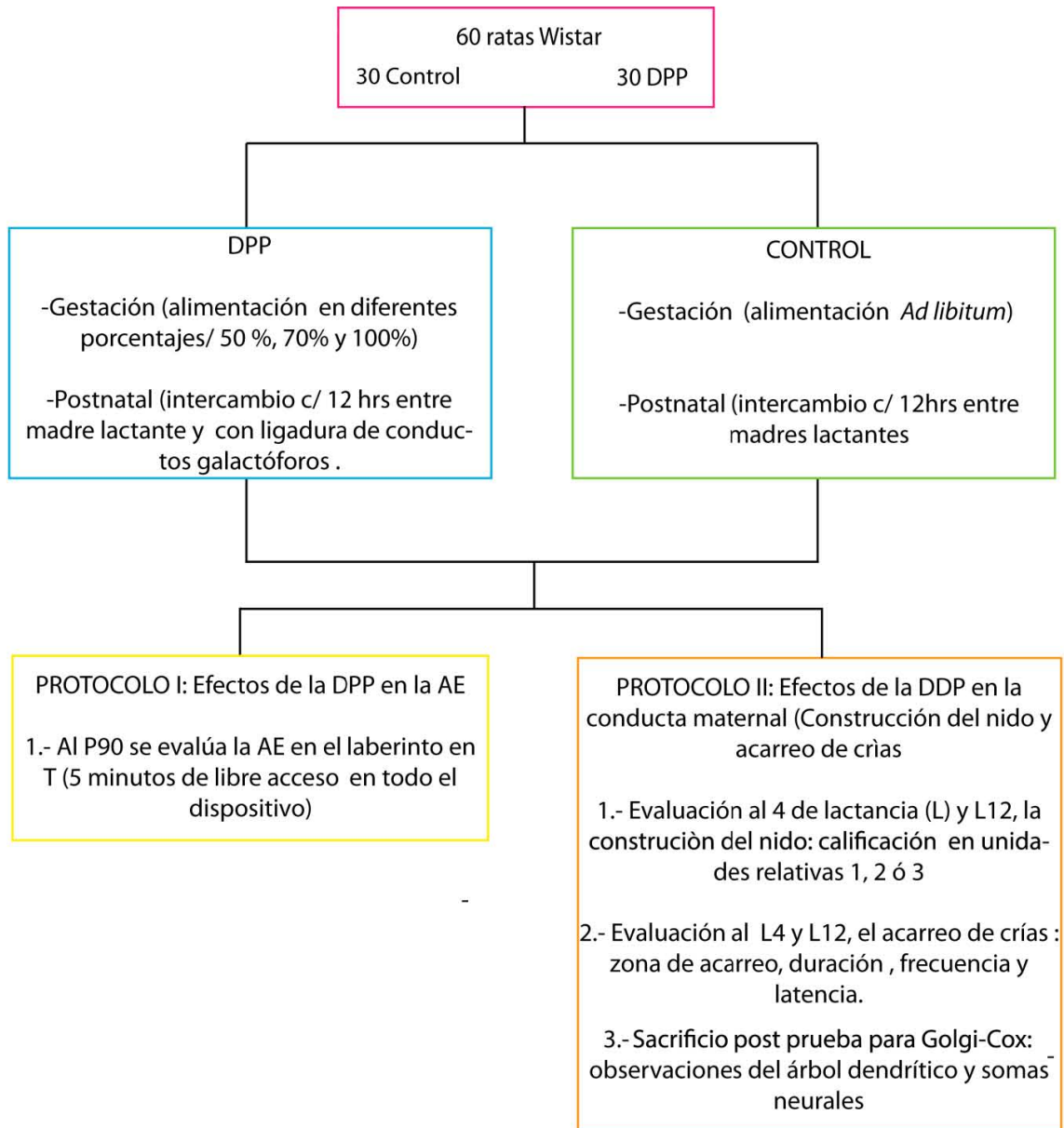


Figura 4. Se muestra el método utilizado en todo el proceso experimental y los criterios utilizados para evaluar la conducta y los cambios histológicos.

3.6.1.1 Nutrición

La desnutrición que se realizó en este proyecto fue perinatal, es decir, durante las etapas de gestación y lactancia.

Las madres del grupo fueron alimentadas con dieta *ad libitum* tanto de alimento como de agua. La dieta fue Lab Diet 5001® de (Purina) y su contenido nutricional/calórico en porcentajes fue el siguiente:

- Proteína 28.507 %
- Lípidos 13.496%
- Carbohidratos 57.996%

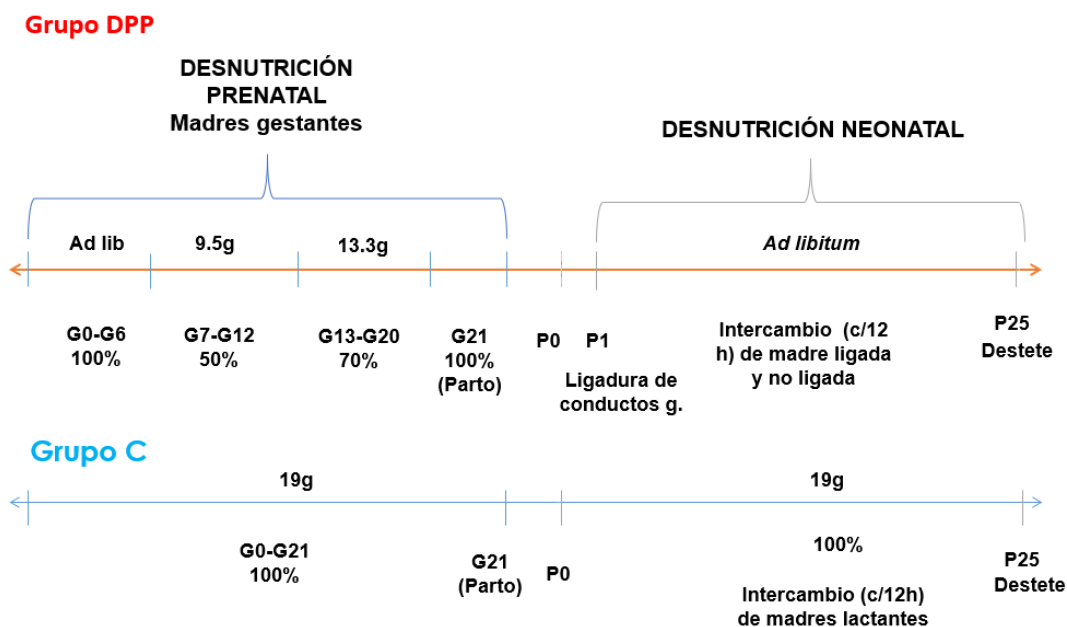


Figura 5. Se muestra la dieta que tuvieron los animales, tanto del grupo control como con DPP.

Las crías del grupo control tuvieron la dieta al 100% durante todo el protocolo como se puede observar en la Figura 5. Las madres del grupo con DPP consumieron el mismo alimento, pero en diferentes porcentajes durante la gestación; al nacimiento entre las camadas se intercambiaron cada 12 h a dos madres, una de ellas ligada de sus conductos galactóforos para evitar la salida de leche (Figura 5). Es decir, estas crías recibieron 12 h de cuidados y alimentación materna y 12 h con sólo los cuidados maternos para minimizar posibles efectos de privación sensorial (Lynch, 1976).

3.6.1.2 Desarrollo y maduración física

El registro del peso corporal y talla de ambos grupos experimentales se comenzó en el día postnatal 1 (P1), para no manipular a los animales recién nacidos y evitar así el posible canibalismo por parte de la madre. La medición se realizó cada cinco días hasta el día P90 cuando se realizaron las pruebas conductuales.

La maduración de las crías control y con DPP se comenzó a registrar en el día P8, aunque la revisión se realizó diariamente por las mañanas. Se registró la apertura de párpados y oídos, contemplando la apertura de un solo lado, se considera como completado el proceso de maduración de estos sentidos, cuando se observan ambos párpados y oídos abiertos completamente.

3.6.1.3 Conducta maternal (acarreo y construcción del nido)

La conducta maternal se observó a los días 4 y 12 posnatales para ambos grupos control y con DPP, se realizó en la caja en la que se encuentra la madre habitualmente. Inicialmente, se calificó el nido y se le dio un puntaje acorde al criterio arriba mencionado.

Posteriormente se sacó a la madre de la caja de maternidad, las crías fueron removidas del nido y esparcidas suavemente por toda la caja, inmediatamente se regresó a la madre a la caja de maternidad y se grabó en video durante 10 min la estrategia realizada por ella para el acarreo de las crías. En todos los casos la caja

habitación se ubicó en una cámara amortiguada al sonido anexa al área común del laboratorio.

- Parámetros para evaluar el acarreo de crías dispersadas intencionalmente fuera del nido:

a) Latencia de acarreo a la primera de las crías de la camada (mediante el uso de un cronómetro).

b) Área corporal de las crías escogida por la madre para el acarreo (nuca, dorso, pelvis, abdomen, extremidades, cabeza o cola) en las video grabaciones. La figura 6, muestra el protocolo que se siguió para obtener a las madres que participaron en el estudio, y el periodo de la lactancia cuando se evaluó la respuesta maternal.

- Parámetros para evaluar para la construcción del nido antes de la video grabación (observación directa):

a) Ubicación del nido en la caja habitación

b) Forma del nido: 3, 2, 1 (escala ordinal)

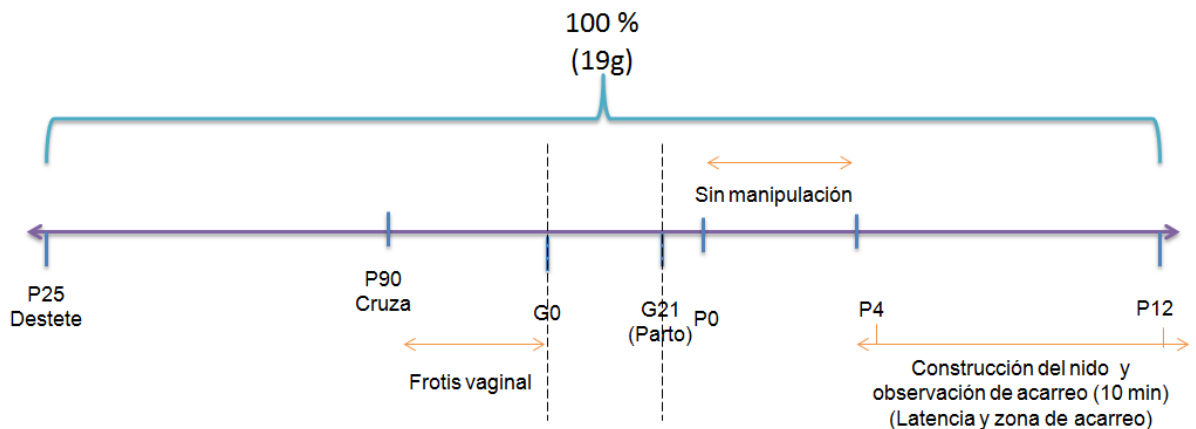


Figura 6. Muestra el protocolo utilizado para la evaluación del nido y el acarreo de las crías.

3.6.1.4 Laberinto en T (alternancia espontánea)

Esta prueba conductual midió la capacidad cognitiva de un sujeto en estudio para recordar un espacio ya visitado, que permitió alternar la elección para un siguiente ensayo. En la prueba se evaluó la memoria de trabajo y la motivación de un animal para explorar el entorno ambiental.

- Parámetros para evaluar:

- a) Latencia en segundos para elegir un brazo del laberinto.
- b) Frecuencia de exploración del laberinto durante el ensayo (bipedestación).
- c) Frecuencia de accesos de auto lamido (autoaseo).
- d) Número de bolos y de gotas de orina depositados durante la prueba como índice de la respuesta autonómica.

- Condiciones para la prueba:

-Ratas adultas

-Una sola sesión de 5 minutos donde el animal pudo explorar libremente.

3.6.1.5 Histología

Método de Golgi-Cox

La técnica de Golgi es un procedimiento histológico que reveló la morfología neuronal completa en tres dimensiones. Esta cuantificación, previo procesamiento histológico se hizo posterior a la observación de la conducta maternal de los días 4 y 12 postnatal de lactancia materna.

- Parámetros evaluados con analizador de imágenes (árbol dendrítico basal y somas neuronales postsinápticos)

-Árbol dendrítico:

- a) Órdenes dendríticos (1º, 2º, 3º, etc.).

- b) Densidad dendrítica (método de Sholl de círculos concéntricos; 40 μm de separación entre cada círculo).
- c) Densidad de espinas de ramas del 2do y 4to orden en segmentos 50 μm de ramas ubicadas en la porción neuronal basal.
- d) Área de sección transversal del soma neuronal en μm^2 y perímetro somático en μm .

4. RESULTADOS

4.1 Efectos de la DPP en el desarrollo somatométrico

4.1.1 Peso corporal

El seguimiento del desarrollo físico de los sujetos durante del proceso de desnutrición, se hizo registrando el peso corporal cada cinco días. El análisis de estos resultados mostró valores significativamente menores en los sujetos debido a la dieta, $F(1,223)=474.04$, $p<0.00001$, por la edad, $F(10,195)=1944.66$, $p<0.00001$ y con interacción dieta x edad, $F(10,195)=16.75$, $p<0.00001$. En el análisis *post hoc*, los sujetos con DPP mostraron valores significativamente menores ($p<0.05$) entre los días P10 al P90 (Figura 7B).

Una vez que las hembras alcanzaron la adultez, fueron cruzadas con machos adultos normales. Al detectarse su preñez, se determinó su peso corporal. La diferencia de peso entre los valores de las madres del GC vs. las madres con DPP, antes y después de la gestación (días 4 y 12 postparto, unificados) mostró valores significativamente menores para las madres con DPP, $F(1,38)=72.58$, $p<0.05$. Asimismo, hubo diferencias comparando el peso pre y el post gestación, $F(1,38)=382.39$, $p<0.05$, e interacción dieta x peso pre y post, $F(1,38)=8.60$, $p<0.05$. El análisis *post hoc*, de los registros del peso corporal antes de la gestación (de ambos grupos), mostró reducciones significativas ($p<0.05$) en el peso corporal de las madres con DPP. El peso corporal post gestacional, en las dos edades de evaluación (4 y 12 de lactancia), fue significativamente menor en el grupo con DPP, $p<0.001$ (Figura 7A).

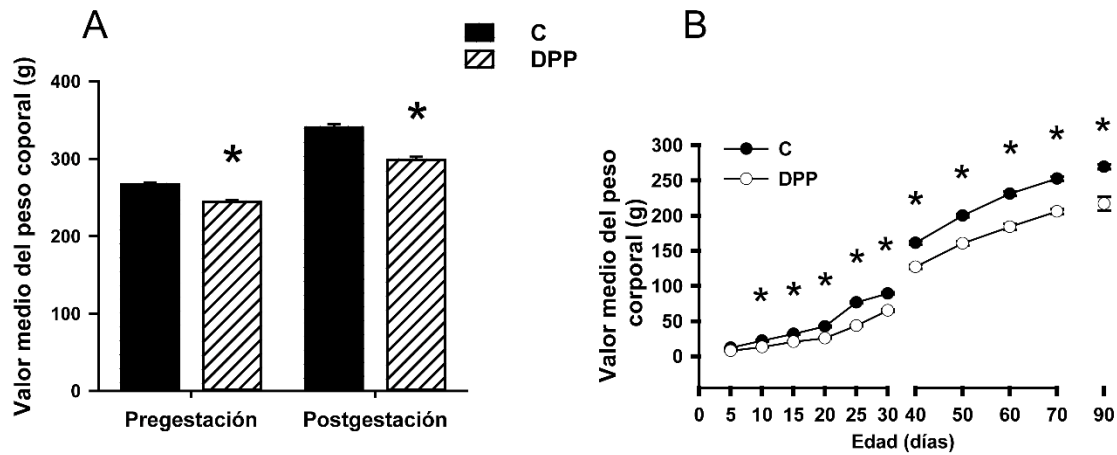


Figura 7. A) Valor medio \pm EEM del peso corporal de las madres tratadas con diferentes dietas antes y después de la gestación, * $p < 0.05$. B) Valor medio \pm EEM de los pesos corporales de ratas con desnutrición pre y post gestación, * $p < 0.05$.

4.1.2 Peso cerebral

El análisis del peso cerebral mostró reducciones significativas debidas a la dieta, $F(1,38)=27.98$, $p < 0.05$, teniéndose cerebros con menor peso para el grupo con DPP. En el análisis *post hoc*, se identificaron diferencias por la dieta en el día 4 (ver Figura 8, con menor peso de los cerebros en el grupo DPP, $p < 0.05$, de igual forma en los registros del día 12, $p < 0.05$ (Figura 8, datos unificados).

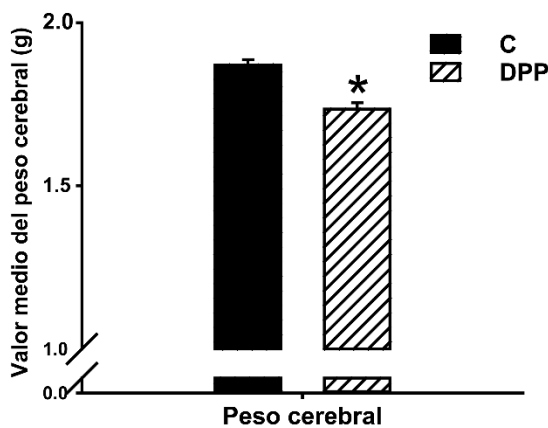


Figura 8. Valor medio \pm EEM del peso cerebral que muestra diferencias significativas debidas a la dieta en el día 4, con valores menores para los cerebros del grupo DPP * $p < 0.05$, de igual forma en los registros del día 12, * $p < 0.05$ (se conjuntaron los datos al no encontrarse diferencias entre los días 4 y 12).

4.1.3 Morfometría corporal

4.1.3.1 Talla

El registro de la talla se hizo cada cinco días a partir del día posnatal (P5), hasta el P30. El ANOVA de estas mediciones mostró valores significativamente menores asociados a la dieta, $F(1,44)=226.2$, $p<0.00001$, por la edad, $F(10,440)=3389.5$, $p<0.00001$; con interacción entre estos dos factores, $F(10,440)=7.6$, $p<0.00001$. En el análisis *post hoc*, a partir del día P15 en adelante se muestran diferencias significativas, manteniendo el grupo con DPP tallas menores, $p<0.01$; y teniéndose diferencias igualmente significativas con el incremento en edad (Figura 9A).

4.1.3.2 Diámetro naso-occipital

Los valores obtenidos del diámetro naso-occipital fueron reducidos significativamente por la dieta, $F(1,44)=396.7$, $p<0.00001$, por la edad, $F(10,440)=1582.7$, $p<0.00001$, con interacción significativa entre dieta x edad, $F(10,440)=8.8$, $p<0.00001$. El análisis *post hoc* de los registros del diámetro naso-occipital fue significativo desde el día P5 al P30, $p<0.05$, sin cambios en los días P40, 50 y 60, y con valores de este diámetro significativamente menores en el grupo con DPP, en los días P70 y P90 (Figura 9B).

4.1.3.3 Diámetro naso-pélvico

Los valores obtenidos del diámetro naso-pélvico asociados a la dieta fueron significativamente menores, $F(1,44)=526.5$, $p<0.0001$, con cambios por la edad, $F(10,440)=3474.5$, $p<0.0001$. De igual forma hubo diferencias significativas en la interacción dieta x edad, $F(10,440)=8.4$, $p<0.0001$. En el análisis *post hoc*, se identificaron diferencias significativas ($p<0.05$) a partir del día P5 en adelante (Figura 9C).

4.1.3.4 Largo de la cola

En las mediciones del largo de la cola, se identificaron reducciones significativas por la dieta, $F(1,44)=182.9$, $p<0.00001$, la edad, $F(1,44)=3060.8$, $p<0.00001$, con interacción entre dieta x edad, $F(10,440)=6.6$, $p<0.00001$. En el análisis *post hoc*, se identificaron reducciones significativas ($p<0.05$) en los sujetos con DPP a partir del día P10 hasta el P25 ($p<0.05$), sin diferencias significativas en las otras edades del estudio (Figura 9D).

4.1.3.5 Distancia de tarso

En los puntajes obtenidos de la distancia del tarso, se identificaron reducciones significativas debido a la dieta, $F(1,44)=186.5$, $p<0.0001$; edad, $F(10,440)=2177$, $p<0.0001$, con interacción entre dieta x edad, $F(10,440)=53.4$, $p<0.0001$. En el análisis *post hoc*, se identificaron reducciones significativas ($p<0.005$) en todos los días de evaluación en los sujetos con DPP (Figura 9E).

4.1.3.6 Diámetro bitemporal

En el análisis de las mediciones de la distancia bitemporal, se identificaron decrementos significativos debido a la dieta, $F(1,44)=356.9$, $p<0.001$, la edad de evaluación, $F(10,440)=1156.0$, $p<0.001$, con interacción significativa entre los factores dieta x edad, $F(10,440)=33.0$, $p<0.001$. En el análisis *post hoc*, sólo se pudieron observar reducciones significativas en las ratas con DPP a partir del día P5 hasta el P20 ($p<0.05$) y posteriormente ($p<0.05$) en el día P50 (Figura 9F).

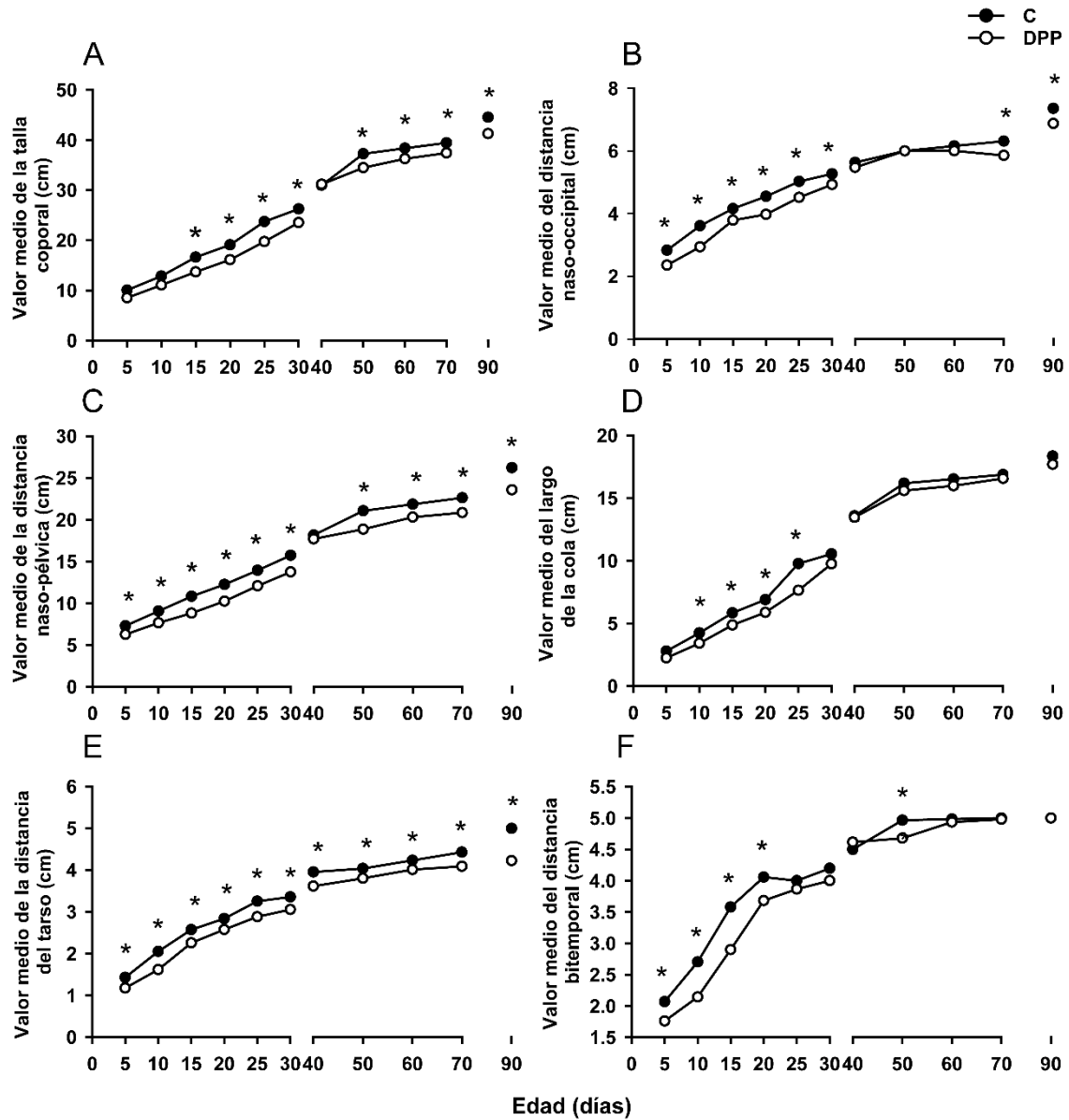


Figura 9. **A)** Valor medio \pm EEM de la talla del grupo control y DPP, $*p < 0.05$. **B)** Valor medio \pm EEM de la distancia naso-occipital del grupo control y DPP se observaron diferencias significativas a partir del P5 postnatal hasta el 30, y posteriormente en el P70 y P90, $*p < 0.05$. **C)** Valor medio \pm EEM de la distancia naso-pélvica del grupo control y DPP $*p < 0.05$. **D)** Valor medio \pm EEM del largo de la cola del grupo control y DPP, $*p < 0.05$. **E)** Valor medio \pm EEM de la distancia del tarso del grupo control y DPP, $*p < 0.05$. **F)** Valor medio \pm EEM de la distancia bitemporal del grupo control y con DPP, $*p < 0.05$.

4.2 EFECTOS DE LA DPP EN LA CONDUCTA MATERNAL

CONDUCTAS MATERNALES

4.2.1 Construcción del nido

La evaluación de la construcción del nido se hizo en los días 4 y 12 de lactancia, encontrándose decrementos significativos por la dieta, $F(1,36)= 11.2268$, $p<0.01$, la edad, $F(1,36)= 33.49$, $p<0.0001$, con interacción dieta x edad, $F(1,36)= 7.51$, $p<0.01$. En la evaluación *post hoc*, hubo decremento significativo sólo en el día P4, de las madres con DPP ($p<0.05$) y cuando se conjuntaron y compararon los valores de los días P4 y P12 de cada condición (Total) con un ANOVA de 1-vía, (Figura 10).

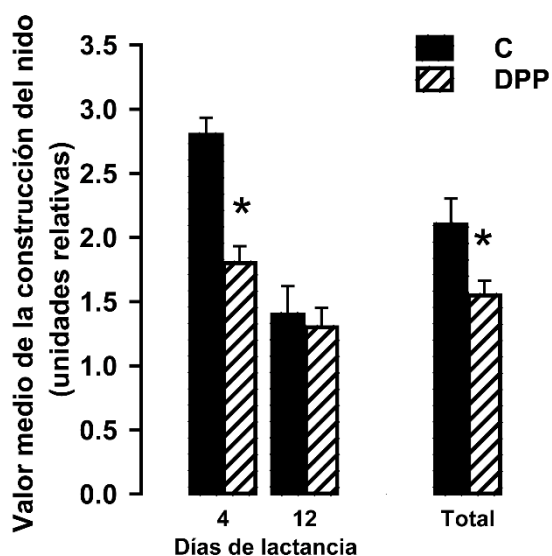


Figura 10. Valor medio \pm EEM de la construcción del nido. Se observaron reducciones significativas sólo en el día 4 de la lactancia y cuando se conjuntaron y compararon los valores del nido de las 2 edades (Total), * $p<0.05$.

4.2.2 Manejo de aserrín

En la latencia para el manejo de aserrín, no se identificaron diferencias significativas, ni por la dieta ni por los días de lactancia e interacción entre factores (Figura 11A).

En cuanto a la frecuencia del manejo de aserrín se obtuvieron reducciones significativas en las madres con DPP, $F(1,18)= 9.2764$, $p<0.05$, sin efectos a los días de lactancia y las interacciones entre los factores. En el análisis *post hoc*, se pudieron identificar reducciones significativas ($p<0.05$) en los días P4 y P12; y en el

total conjuntando los valores de los 2 días de lactancia de las madres con DPP (Figura 11B).

Asimismo, no se observaron diferencias en la duración del manejo de aserrín por las madres de ambas condiciones de dieta, ni en la interacción de los factores. El análisis *post hoc* no mostró diferencias significativas entre los grupos a lo largo de los días del estudio (Figura 11C).

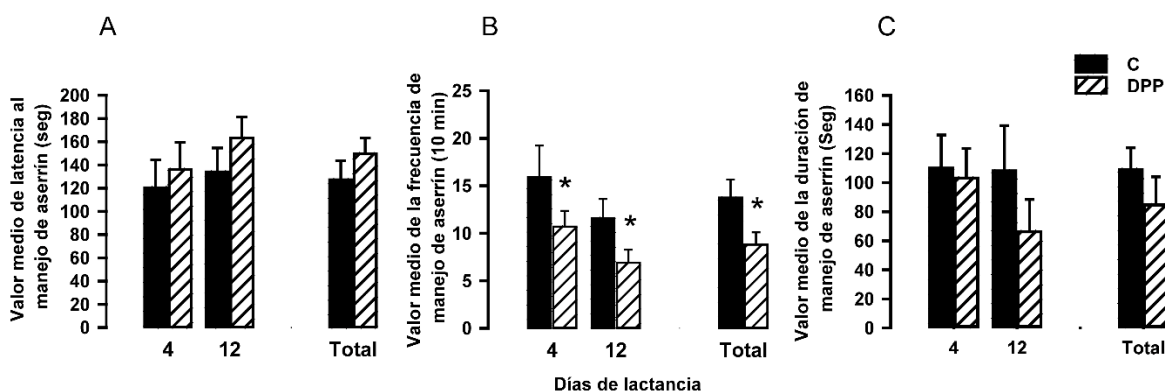


Figura 11. **A)** Valor medio \pm EEM de duración en el manejo de aserrín. **B)** Valor medio \pm EEM de la frecuencia del manejo de aserrín, se observan reducciones significativas en las madres con DPP, * $p < 0.05$. **C)** Valor medio \pm EEM de la duración del manejo de aserrín.

4.2.3 Acarreo

El análisis de los parámetros obtenidos de las latencias de acarreo en los 2 días de lactancia mostró incrementos significativos asociados a la dieta, $F(1,18) = 9.53935$, $p < 0.01$, sin efectos para la edad y la interacción entre los factores. En el análisis *post hoc* se observaron incrementos significativos ($p < 0.05$) en las latencias para el acarreo en ambos días de evaluación, y en el total conjuntando las 2 edades de lactancia de las madres con DPP (Figura 12A).

En cuanto a la frecuencia de acarreo se obtuvieron reducciones significativas asociadas a la dieta, $F(1,18) = 12.0440$, $p = 0.002$, sin efectos del factor edad y a su vez por la interacción de los factores dieta x edad, $F(1,18) = 6.5511$, $p = 0.01$. En el análisis *post hoc*, se observaron reducciones significativas en el día 12 ($p = 0.001$), y en el total ($p < 0.05$) conjuntando los datos de los 2 días de lactancia en las madres con DPP (Figura 12B).

Respecto a la duración del acarreo de crías las comparaciones entre las muestras mostraron reducciones significativas relacionadas con la dieta, $F(1,18)=5.99623$, (*) $p=0.02$, más no por la edad o la interacción entre estos factores. En cuanto, al análisis *post hoc*, no se identificaron diferencias significativas en ninguna de las comparaciones, aunque si tendencias a reducirse ($p<0.07$). Únicamente en el total conjuntando los valores de los 2 días de lactancia se encontró reducción significativa en las madres con DPP ($p<0.05$) (Figura 12C).

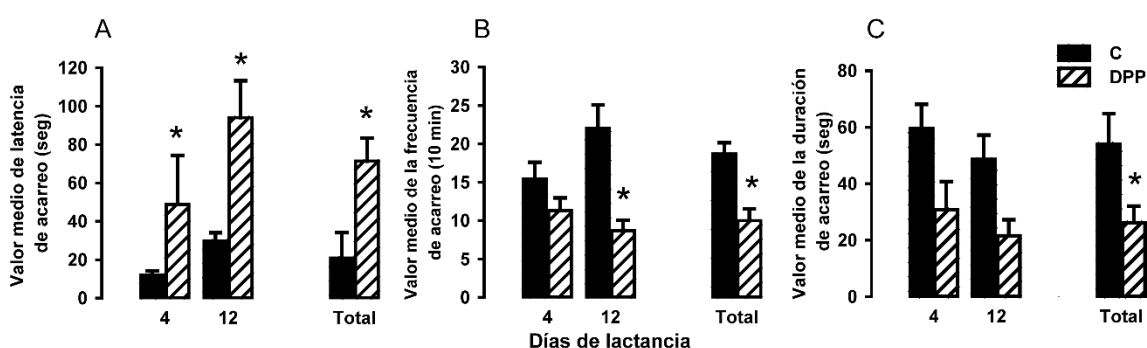


Figura 12. A) Valor medio \pm EEM de la latencia para el acarreo, * $p<0.05$ en las madres con DPP en ambos días de lactancia y en el total conjuntando las mediciones. B) Valor medio \pm EEM de la frecuencia de acarreo, * $p<0.05$. C) Valor medio \pm EEM de la duración de acarreo, * $p<0.05$.

4.2.2.2 Acarreo por zona

En el análisis de la frecuencia del acarreo por zonas del cuerpo de donde fue prendida la cría por la madre, se observaron diferencias significativas por la dieta $F(1,18)= 11.5383$, $p<0.05$ y por la zona de acarreo $F(6,108)= 47.45$, $p<0.05$; a su vez hubo interacción entre los factores dieta x zona de acarreo, $F(6,108)= 28.21$, $P<0.05$; dieta x edad, $F(1,18)=6.32$, $p<0.05$ y por último zona x edad, $F(6,108)= 3.98$, $p<0.05$. La zona que es preferida para el acarreo fue la zona 2, que corresponde a la nuca. En la Figura 13A se observa que el grupo control acarrea más por esta área en comparación con las madres con DPP, que acarrean indistintamente en cualquier área ($p<0.05$) esto en el día 4 de lactancia.

En cuanto a las evaluaciones realizadas en el día 12 del estudio, las madres con DPP mostraron menor frecuencia significativa de acarreo por la zona preferida

(zona 2), aunque se puede observar mayor variación en los valores obtenidos en las otras áreas del cuerpo para el acarreo ($p < 0.05$), (Figura 13B).

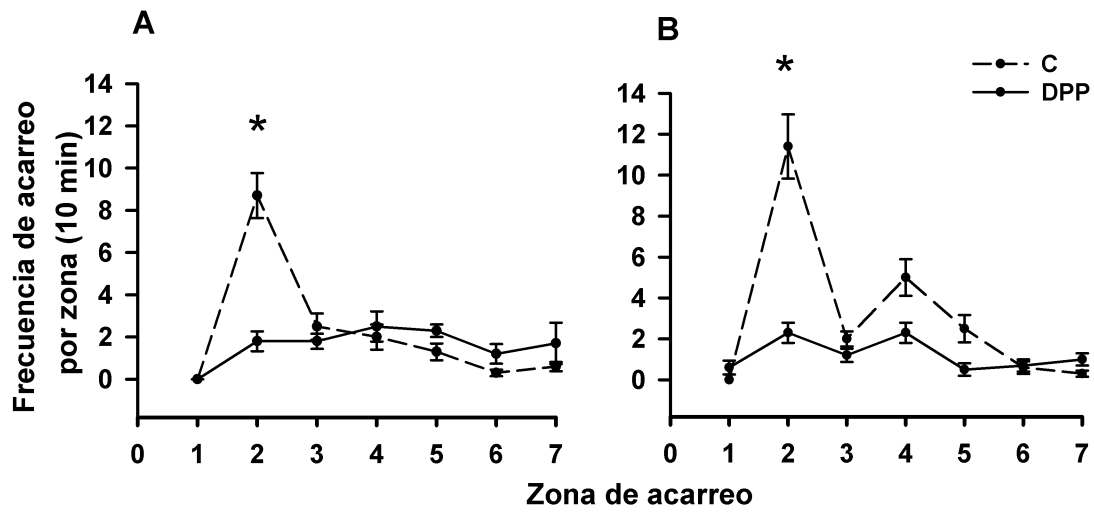


Figura 13. **A)** Valor medio \pm EEM de la frecuencia del acarreo por zona de presión del cuerpo de las crías en el día P4 de lactancia, * $p < 0.05$. **B)** Valor medio \pm EEM de la frecuencia del acarreo por zona de presión en el día P12 de lactancia, * $p < 0.05$.

CONDUCTAS NO MATERNALES

4.2.3 Exploración

En la evaluación de la latencia para la exploración, no se observaron diferencias significativas asociadas a la dieta o la edad, ni en la interacción de estos factores. El análisis *post hoc*, de la exploración mostró incrementos significativos en las madres con DPP sólo en el Total conjuntando los 2 días de lactancia ($p < 0.05$), (Figura 14A).

En el análisis de los puntajes de la frecuencia de exploración hubo incremento significativo asociado a la dieta, $F(1,18)=5.0276$, $p=0.03$, sin encontrarse significancia para la edad y la interacción entre factores. El análisis *post hoc* de la exploración mostró incrementos significativos en las madres con DPP ($p=0.04$) sólo en el día P12 y al conjuntar y comparar los valores de los 2 días de lactancia (Total), (Figura 14B).

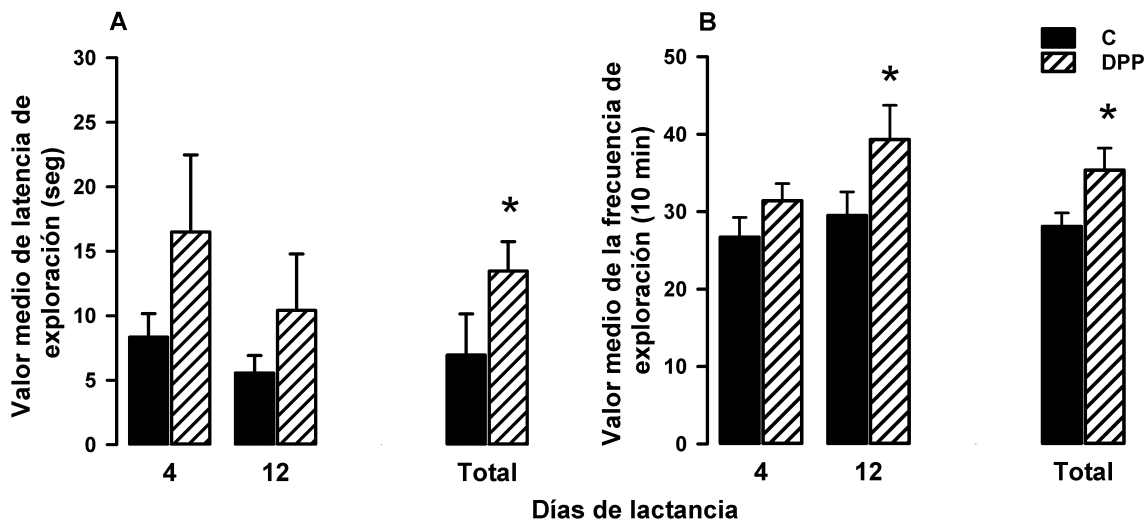


Figura 14. **A)** Valor medio \pm EEM de latencia para iniciar la exploración, (* $p < 0.05$). **B)** Valor medio \pm EEM de la frecuencia de exploración que incrementó significativamente ($p=0.04$) en el día P12 de lactancia y cuando se conjuntan los valores de las 2 edades, * $p < 0.05$.

4.2.4 Autoaseo

En la evaluación de la latencia para la conducta de autoaseo, no se observaron diferencias significativas asociadas a la dieta o la edad, ni en la interacción de estos factores. En el análisis *post hoc*, se identificaron incrementos significativos únicamente para el día el P4, donde las madres del grupo DPP tuvieron incrementos en la latencia para el iniciar el autoaseo en comparación con las madres control, $p < 0.05$ (Figura 15A).

Respecto a la frecuencia de autoaseo, se identificaron reducciones significativas debidas a la dieta, $F(1,18) = 5.29$, $p < 0.05$. sin efectos por la edad y sin interacción entre factores. En el análisis *post hoc* se observaron reducciones significativas ($p < 0.05$) en las madres del grupo con DPP sólo en el día P4, y en el Total conjuntando los 2 días de lactancia ($p < 0.05$), (Figura 15B).

En el análisis de los datos de la duración del autoaseo, no se identificaron diferencias por la dieta, el día de evaluación, y de igual forma en la interacción de los datos. El análisis *post hoc* de la duración de los accesos de autoaseo mostró incremento significativo ($p < 0.05$) de la duración sólo en el día P4 de las madres con DPP, sin efectos para el día P12 y el total de los 2 días de lactancia (Figura 15C).

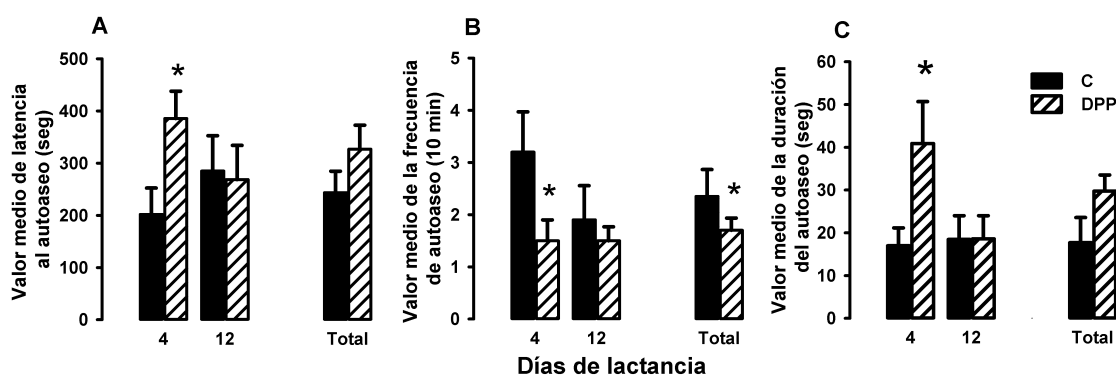


Figura 15. **A)** Valor medio \pm EEM de latencia para iniciar el autoaseo, * $p < 0.05$. **B)** Valor medio \pm EEM de la frecuencia de autoaseo, * $p < 0.05$. **C)** Valor medio \pm EEM de la duración del autoaseo.

4.3 EFECTOS DE LA DPP EN LA MORFOLOGÍA NEURONAL

4.3.1 Cíngulo anterior

Perímetro

En el ANOVA del perímetro de las neuronas piramidales del AC, mostró reducciones significativas en el perímetro de las neuronas de las madres con DPP, $F(1,116) = 18.83$, $p < 0.05$, con la edad de 4 y 12 días de lactancia; $F(1,116) = 7.80$, $p < 0.05$. En el análisis *post hoc*, el perímetro mostró reducciones significativas ($p < 0.05$) en los días P4 y P12 de las madres con DPP, y en el Total de comparaciones de las 2 edades (Figura 16A).

Área somática.

De igual forma el ANOVA realizado en los valores del área de los somas de las neuronas de esta estructura, hubo reducciones significativas en las madres con DPP, $F(1,116) = 28.211$, $p < 0.05$, por la edad, $F(1,116) = 5.772$, $p < 0.05$, sin interacción entre los factores. En la evaluación *post hoc* se identificaron reducciones significativas ($p < 0.05$) en el área de los somas neuronales en el día P4 y P12, y en el total conjuntando los valores de los 2 días de lactancia del estudio (Figura 16B).

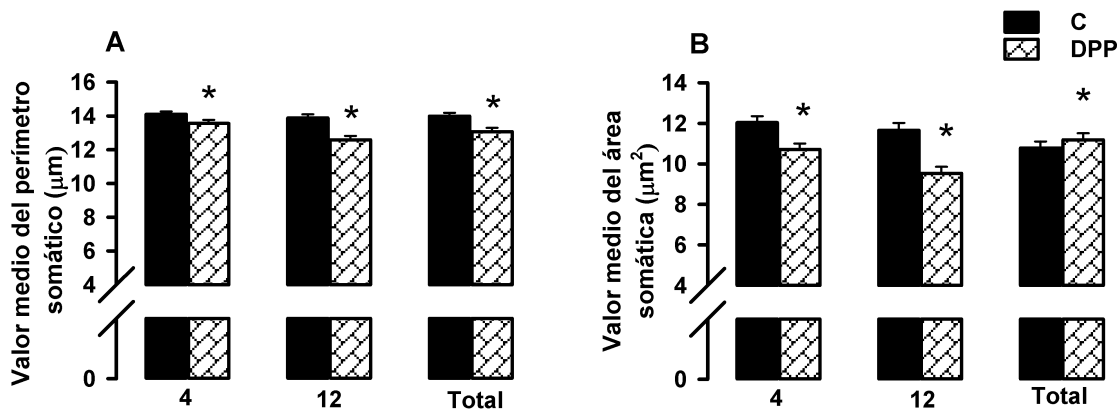


Figura 16. **A)** Valor medio \pm EEM del perímetro de neuronas del cíngulo anterior, $*p < 0.05$. **B)** Valor medio \pm EEM del área de las neuronas del cíngulo anterior, $*p < 0.05$.

Densidad dendrítica

En cuanto a la densidad dendrítica de las neuronas del AC, los resultados mostraron reducciones significativas en las neuronas de las madres con DPP, $F(1,116)=257.651$, $p<0.00001$, la edad, $F(1,116)=7.722$, $p<0.005$; y la interacción entre dieta x días de lactancia, $F(1,116)=6.012$, $p<0.05$. De igual forma en las interacciones número de cruces x dieta, $F(6,696)=5.525$, $p<0.0001$; número de cruces x día de lactancia, $F(6,696)=2.756$, $p<0.05$; número de cruces x dieta x días de lactancia, $F(1,696)=5.303$, $p<0.0001$. En el análisis *post hoc*, se observaron diferencias significativas en todos los círculos concéntricos y cuando se conjuntaron, siendo el grupo DPP el que mostró reducciones significativas en la densidad dendrítica, $p<0.05$ (Figura 17A).

Número de ramas dendríticas

Respecto al número de dendritas de las neuronas del AC en las comparaciones del ANOVA entre los grupos, se identificaron reducciones significativas en las ramas de las neuronas de las madres con DPP, $F(1,116)=253.511$, $p<0.0001$; sin efectos por el día de lactancia. De igual forma, se mostró significancia entre los factores, dieta x día de lactancia, $F(1,116)=253.511$, $p<0.05$, mostrando un aumento en el número de ramas en el día 12 de lactancia. A su vez, se observaron diferencias significativas en las interacciones entre el orden dendrítico x dieta, $F(4,464)=23.187$, $p<0.0001$; orden dendrítico x día de lactancia, $F(4,464)=3.125$, $p<0.05$, en cuanto a la interacción entre el orden dendrítico x dieta x día de lactancia, sólo se mostró una tendencia, $F(4,464)=2.278$, $p<0.06$. En el análisis *post hoc*, se observaron diferencias significativas en todos los órdenes dendríticos y en el total para ambas edades de evaluación, siendo el grupo desnutrido el que presenta significativamente menor número de arborizaciones (Figura 17B).

Número de espinas dendríticas

El ANOVA realizado con el número de espinas dendríticas resultó con diferencias significativas debido a la dieta, $F(1,96)=195.75$, $p<0.0001$, sin efectos, por el día de lactancia, ni interacción entre éstos. En cuanto al orden, se identificaron

reducciones significativas en el grupo de madres DPP, $F(1,96) = 16.74$, $p < 0.0001$; en la interacción orden x dieta, $F(1,96) = 13.25$, $p < 0.0001$ y orden x dieta x días de lactancia, $F(1,96) = 5.59$, $p = 0.02$. En el análisis *post hoc*, se identificaron reducciones significativas en el grupo DPP en ambos días de lactancia en comparación con el control ($p < 0.05$); además de reducciones en el 4to orden en comparación con el 2do, únicamente el grupo DPP ($p < 0.05$).

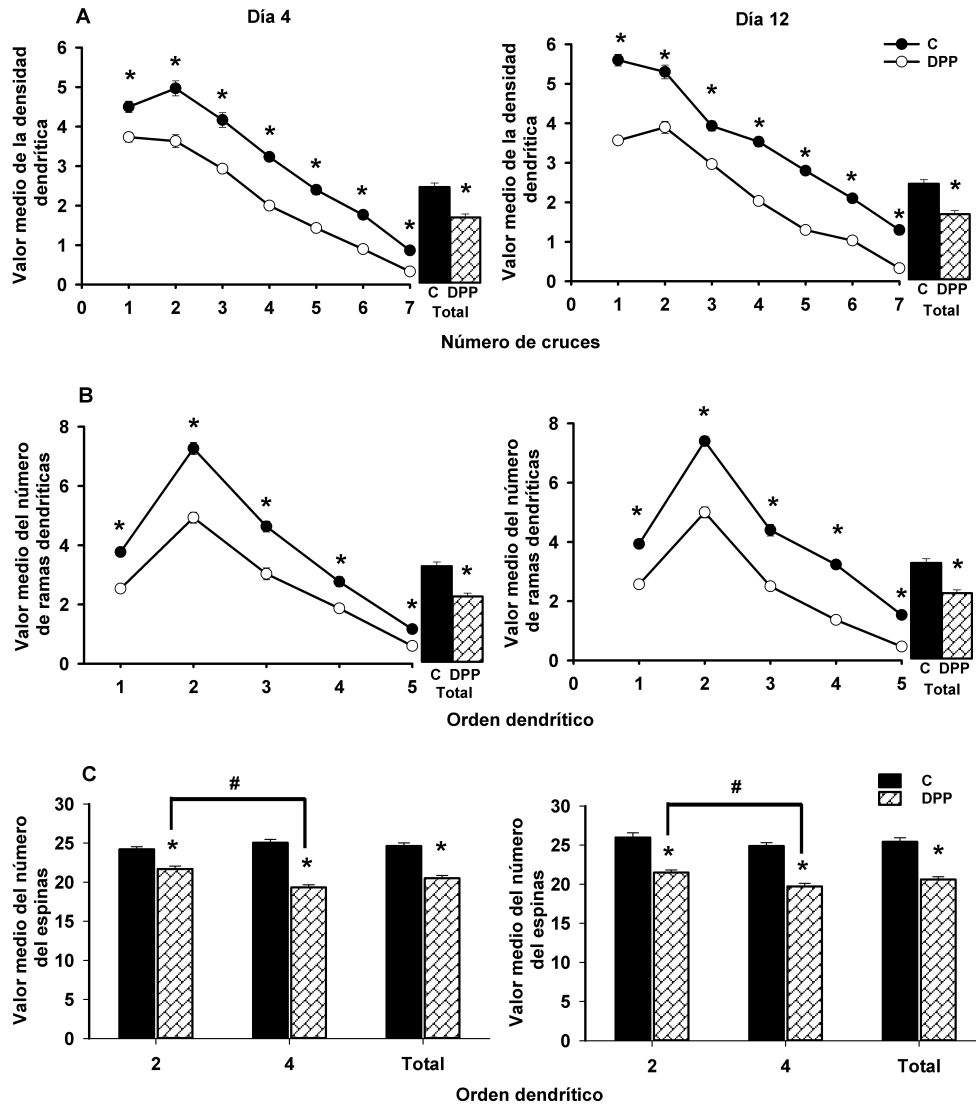


Figura 17. **A)** Valor medio \pm EEM de la densidad dendrítica del AC, $*p < 0.05$. **B)** Valor medio \pm EEM del número de ramas por orden dendrítico de neuronas del AC, $*p < 0.05$. **C)** Valor medio \pm EEM del número de espinas por orden dendrítico (2 y 4) de neuronas del cíngulo anterior, $*p < 0.05$. Se observan reducciones entre el orden 2 en comparación con el 4 en ambos días de lactancia, únicamente en el grupo DPP ($\#p < 0.05$).

4.3.2 Corteza prefrontal medial

Perímetro somático

Los resultados del ANOVA de las comparaciones del perímetro somático de las neuronas de la mPFC mostraron reducciones significativas en la madres con DPP, $F(1,116)=117.81$, $p<0.0001$; sin diferencias por la edad e interacción entre los factores. En el análisis *post hoc*, se obtuvieron reducciones significativas ($p<0.001$) en el perímetro de las neuronas obtenidas de los sujetos con DPP en los días P4 y P12, y en el total de las comparaciones (Figura 18A).

Área somática

Respecto al área de las neuronas obtenidas de la mPFC se identificaron reducciones significativas, $F(1,116)=108.186$, $p<0.0001$; más no por la edad de evaluación, pero si hubo interacción dieta x edad, $F(1,116)=4.069$, $p<0.05$. En el análisis *post hoc*, se identificaron diferencias entre los grupos en ambas edades de evaluación, teniéndose reducciones significativas ($p<0.05$) para las neuronas del grupo con DPP y en el total de los 2 días del estudio (Figura 18B).

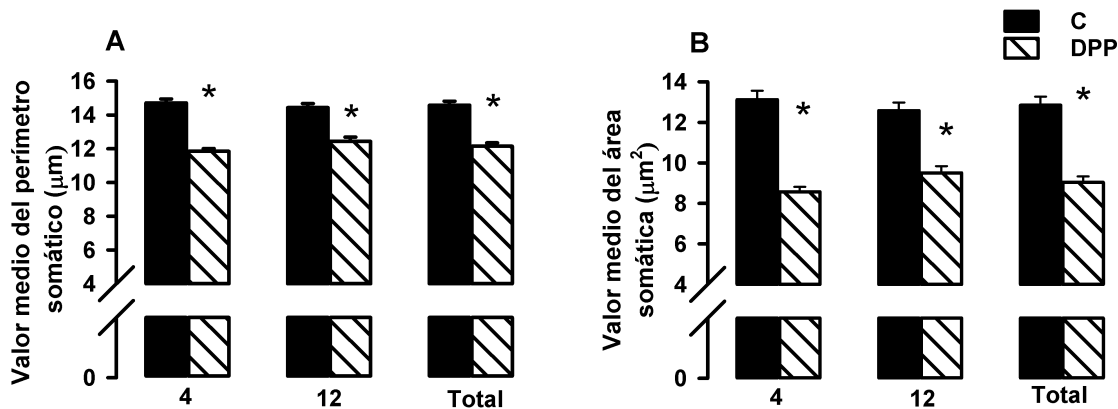


Figura 18. **A)** Valor medio \pm EEM del perímetro de las neuronas obtenidas de la mPFC, * $p < 0.05$. Asimismo, se muestra en **B)** Valor medio \pm EEM del área somática de neuronas de la mPFC, * $p < 0.05$.

Densidad dendrítica

En cuanto a la densidad dendrítica, se identificaron diferencias significativas por la dieta, $F(1,116)=434.887$, $p < 0.00001$; mostrando menor número de cruces de dendritas el grupo de madres DPP. De igual forma se encontraron diferencias por el día de lactancia, mostrando un aumento de cruces en el día 12, $F(1,116)=26.213$, $p < 0.0001$. En cuanto a las interacciones se identificaron diferencias en número de cruces x dieta, $F(6,696)=11.206$, $p < 0.0001$; número de cruces x día de lactancia, $F(6,69)=6.104$, $p < 0.0001$; número de cruces x dieta x día de lactancia, $F(6,696)=2.691$, $p < 0.05$. En cuanto al análisis *post hoc* de la densidad dendrítica en las edades P4, P12 y en el total mostraron reducciones significativas en las neuronas del grupo DPP ($p < 0.01$), únicamente en el cruce del séptimo círculo concéntrico no se observaron diferencias en ambos días de lactancia (Figura 19A).

Número de ramas dendríticas

En el número de las dendríticas de neuronas de esta región cortical se encontraron reducciones significativas en las madres con DPP, $F(1,116)=771.049$, $p < 0.0001$, por el día de lactancia, $F(1,116)=9.904$, $p < 0.002$; dieta x día de lactancia, $F(1,116)=13.708$, $p < 0.001$. De igual forma en las interacciones orden dendrítico x

dieta, $F(4,464)=75.90$, $p<0.0001$; orden dendrítico x día de lactancia, $F(4,464)=2.897$, $p<0.05$; orden dendrítico x día de lactancia x dieta, $F(4,464)=4.704$; $p<0.001$. En el análisis *post hoc*, se observaron sólo diferencias significativas a partir del primer orden de dendritas hasta el cuarto, esto en el día P4 de evaluación, $p<0.05$. En el día P12 de evaluación, se identificaron diferencias significativas en todos los órdenes dendríticos, $p<0.05$ (Figura 19B).

Número de espinas dendríticas

El análisis ANOVA mostró reducciones significativas en el número de espinas debido a la dieta en las madres DPP, $F(1,96)=161.25$, $p<0.0001$; a los días de lactancia, $F(1,96)=5.63$, $p<0.01$, además de interacción entre los dos factores, $F(1,96)=5.33$, $p=0.02$. En cuanto al orden, de igual manera se identificó significancia, $F(1,96)=28.64$, $p<0.0001$; e interacción entre orden x dieta, $F(1,96)=27.94$, $p<0.0001$. Los resultados del análisis *post hoc*, se identificaron diferencias significativas en ambos órdenes dendríticos mostrando reducción por parte del grupo DPP; de igual forma se redujo significativamente la densidad de espinas en el 4to orden en las madres DPP en contraste con el 2do orden del mismo grupo en los dos días de evaluación.

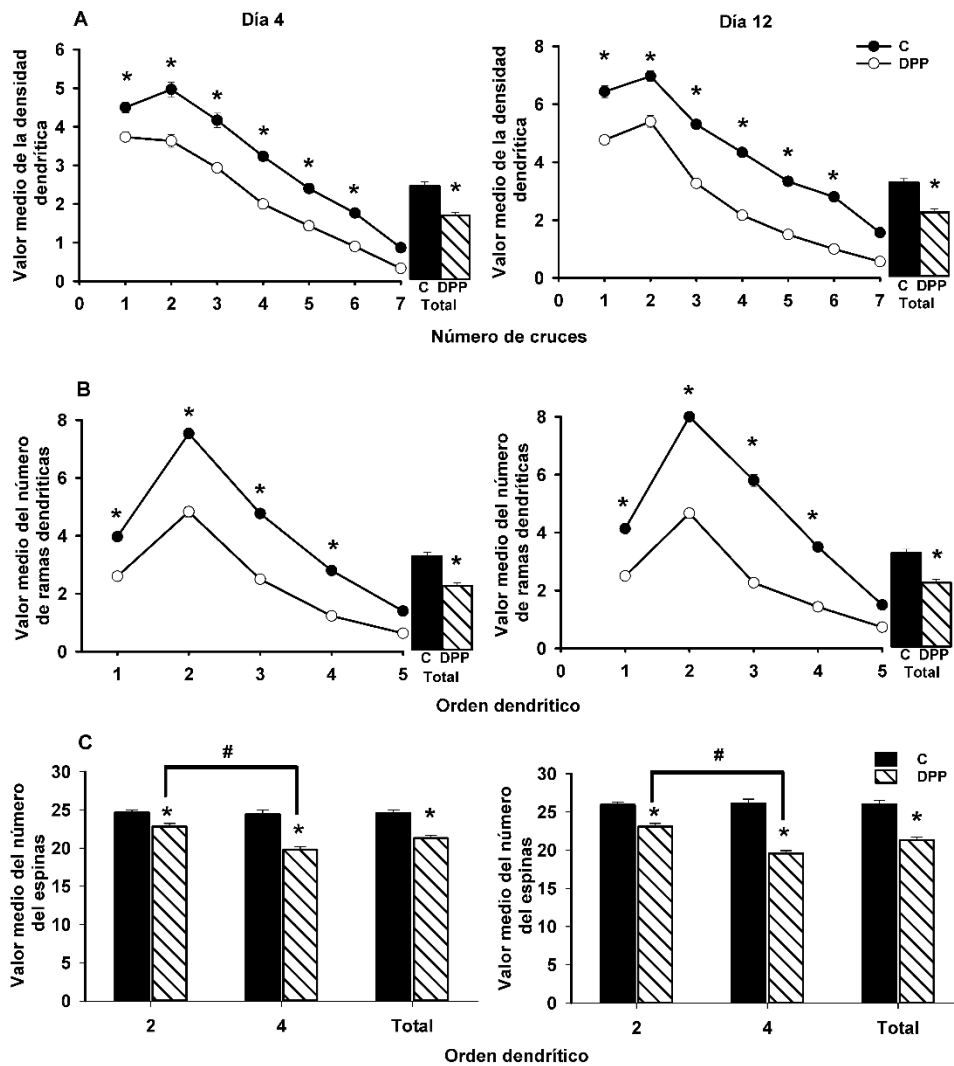


Figura 19. **A)** Valor medio \pm EEM de la densidad dendrítica de la mPFC, * $p < 0.05$. **B)** Valor medio \pm EEM del número de órdenes dendríticos de neuronas de la mPFC, * $p < 0.05$. **C)** Valor medio \pm EEM del número de espinas por orden dendrítico (2 y 4) de neuronas de la mPFC, * $p < 0.05$. Se observaron reducciones entre el orden 2 en comparación con el 4 en ambos días de lactancia, únicamente en el grupo DPP (# $p < 0.05$).

4.3.3 Amígdala basolateral

Perímetro somático

Los datos del análisis del perímetro somático de neuronas multipolares de la BLA, mostraron reducciones significativas en las madres con DPP, $F(1,116)=5.29$, $p<0.05$; el día de lactancia, $F(1,116)=11.84$, $p<0.001$, sin interacción entre los factores. En el análisis *post hoc*, se encontraron solamente diferencias en el día P4 de evaluación, siendo el grupo DPP el que mantiene perímetros de menor tamaño (Figura 20A).

Área somática

En el análisis de los datos del área somática de las neuronas de esta zona, se identificaron reducciones significativas por la DPP, $F(1,116)=20.88$, $p<0.05$; Con el análisis *post hoc*, se identificó únicamente diferencias significativas entre los grupos sólo en el día 4 de lactancia, $p<0.05$; (Figura 20B).

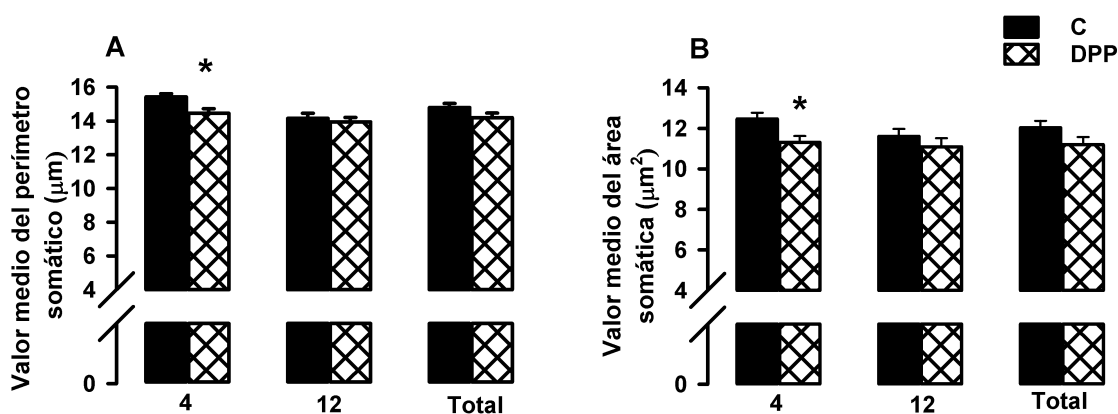


Figura 20. **A)** Valor medio \pm EEM del perímetro de las neuronas de BLA, donde hay diferencias significativas por la dieta, teniendo el grupo DPP un menor perímetro neuronal, esto únicamente en el día 4. (* $p<0.05$). **B)** Valor medio \pm EEM del área de las neuronas de BLA, * $p<0.05$.

Densidad dendrítica

En el análisis de la densidad dendrítica de neuronas de la BLA, hubo reducciones significativas en las madres con DPP, $F(1,116)=456.73$, $p<0.0001$; sin efectos por la edad e interacciones entre los factores dieta x edad x densidad. Se mostraron diferencias significativas en las interacciones número de cruces x dieta, $F(6,696)=46.55$, $p<0.0001$; número de cruces x día lactancia, $F(6,696)=7.21$, $p<0.0001$; número de cruces x día lactancia x dieta, $F(6,696)=14.83$, $p<0.0001$. En el análisis *post hoc*, en el día P4 se observaron diferencias significativas a partir del tercer círculo concéntrico hasta el sexto ($p<0.05$), sin embargo, en el día P12 de evaluación las diferencias ocurrieron desde el primer círculo hasta el quinto y en el total, $p<0.05$, (Figura 21A).

Número de ramas dendríticas

La arborización neuronal de la BLA tuvo reducciones significativas por la DPP, $F(1,116)=267.280$, $p<0.0001$; Así mismo, se encontraron diferencias por la edad de evaluación, $F(1,116)=5.719$. Se observó significancia en las interacciones orden dendrítico x dieta, $F(4,464)=28.833$, $p<0.0001$; orden dendrítico x día de lactancia, $F(4,464)=3.189$, $p<0.05$; orden dendrítico x dieta x día de lactancia, $F(4,464)=7.090$, $p<0.0001$. En el análisis *post hoc*, en el día P4 de evaluación se observaron diferencias significativas a partir del primer orden de dendritas hasta el cuarto orden dendrítico ($p<0.05$). En el día P12 de evaluación, se identificaron diferencias significativas hasta el tercer círculo y en el total de los órdenes, $p<0.05$ (Figura 21B).

Número de espinas dendríticas

Los resultados de la ANOVA de la densidad de espinas en BLA, mostró reducciones significativas por la dieta, $F(1,96)=247.41$, $p<0.0001$; por los días de lactancia, $F(1,96)=4.50$, $p=0.03$; sin interacción entre los factores. De igual forma se observó significancia por el orden dendrítico, $F(1,96)=38.99$, $p<0.0001$; e interacción orden x dieta, $F(1,96)=31.92$, $p<0.0001$; orden x día de lactancia, $F(1,96)=5.46$, $p=0.02$. En el análisis *post hoc*, se observaron reducciones significativas en ambos días de

lactancia y en ambos ordenes dendríticos, ($p < 0.05$) en las hembras con DPP. De igual forma, se identificaron reducciones en el día 12 del orden 4 en comparación con el orden 2, en el grupo con DPP.

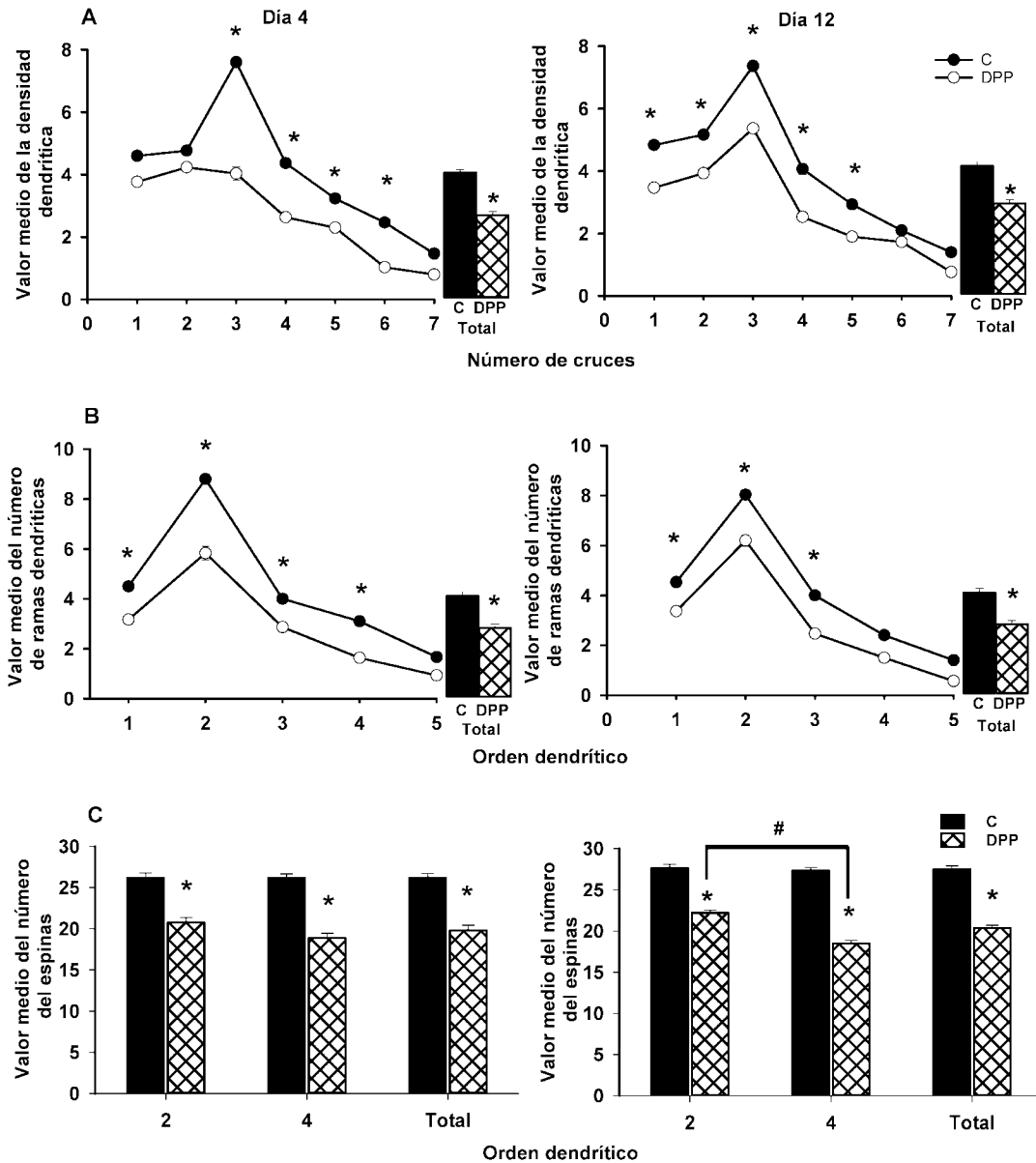


Figura 21. **A)** Valor medio \pm EEM de la densidad dendrítica de neuronas de la BLA se identifican diferencias significativas por la dieta únicamente ($*p < 0.05$). **B)** Valor medio \pm EEM del número de ramas por orden dendrítico de la BLA, $*p < 0.05$. **C)** Valor medio \pm EEM del número de espinas por orden dendrítico (2 y 4) de neuronas de la BLA, $*p < 0.05$. Se observaron reducciones entre el orden 2 en comparación con el 4, únicamente en el grupo DPP en el día 12 de lactancia ($\#p < 0.05$).

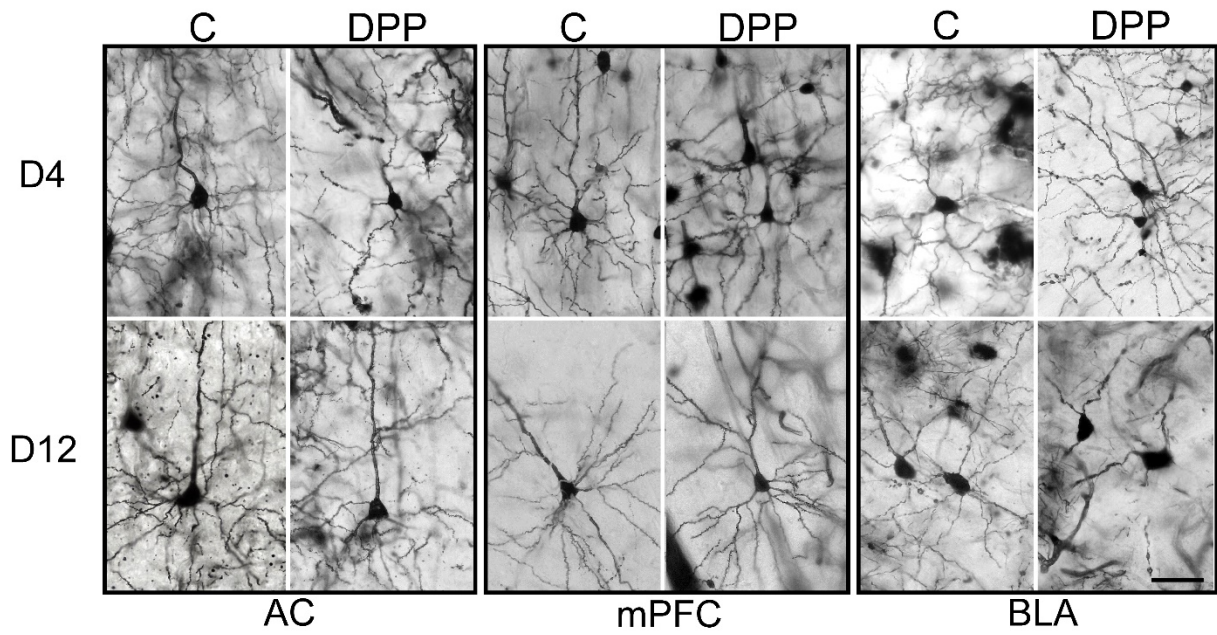


Fig 22. Fotomicrografías representativas de neuronas piramidales y multipolares de AC, mPFC y BLA, se observa la reducción de las ramas y órdenes dendríticos en las madres con DPP. Barra, 200 μ m.

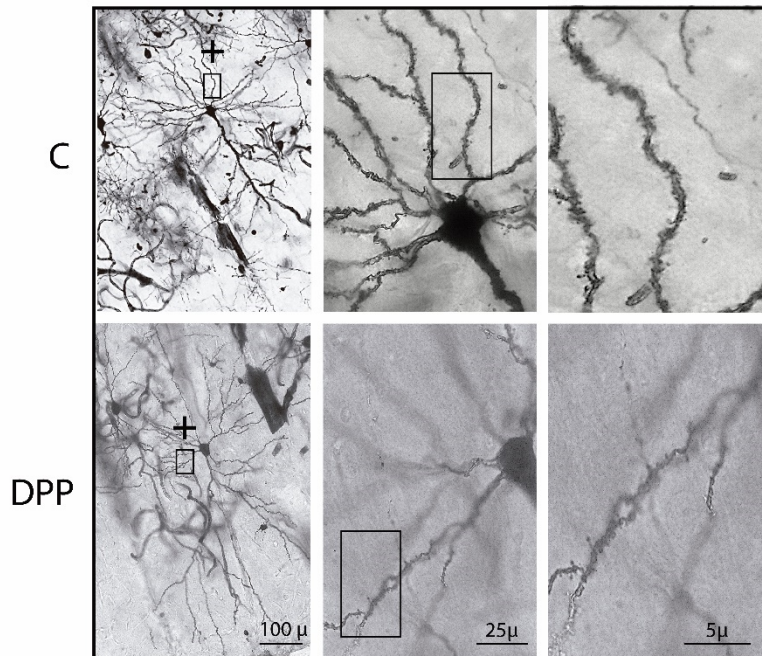


Fig 23. Fotomicrografías representativas de neuronas piramidales AC de capa II de madres lactantes con DPP y C en el día 4 (+). Se observa la reducción de las espinas dendríticas en el grupo DPP.

4.4 EFECTOS DE LA DPP EN LA EJECUCIÓN DEL LABERINTO EN T (Alternancia espontánea)

Peso corporal de hembras vírgenes con DPP

En la prueba ANOVA para el peso corporal, se encontraron reducciones significativas por parte del grupo de hembras con DPP debido a la dieta, $F(1,18) = 10.27$, $p=0.004$, (Figura 22A).

Entradas a los brazos y alternancia espontánea

En el análisis de la entrada a cada uno de los brazos se observaron diferencias significativas en el brazo central, $F(1,18) = 10.03$, $p=0.005$, siendo el grupo DPP el que tuvo un menor número de entradas, (Ver Fig.22B). De igual forma ocurrió en el brazo derecho, $F(1,18) = 6.05$, $p=0.04$), aunque con una significancia menor, (Ver Fig. 16B). En cuanto, al brazo izquierdo se mostraron reducciones significativas igualmente por el grupo DPP, $F(1,18) = 8.9$, $p=0.007$, (Ver Fig. 16B).

En el análisis del número de alternancias, se identificaron reducciones significativas por parte de las hembras DPP, $F(1,18) = 33.66$, $p=0.00001$, (Figura 22C).

Presencia de heces fecales y orina

Respecto al análisis de presencia de heces fecales después de la prueba conductual, se observaron diferencias significativas, siendo las hembras DPP las que tuvieron mayor respuesta fisiológica, $F(1,18) = 6$, $p=0.02$, (ver Tabla 2). De igual forma sucedió con la orina, pero con una mayor significancia, $F(1,18) = 13.93$. $p=0.001$, (Tabla 2).

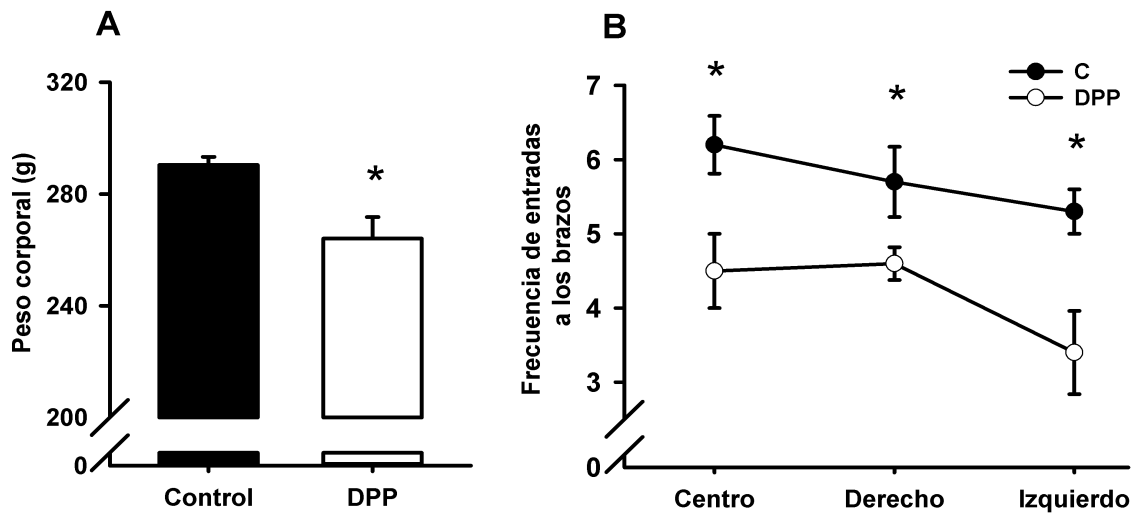


Tabla 2. ANOVA de las gotas de orina y bolos fecales depositados por los grupos C y DPP durante la prueba de alternancia espontánea.

Gotas de orina			
Factor	gl	F	p
Nutrición	1,18	13.93	0.0001
		Control	DPP
No. de gotas de orina	0.80 ±0.29	3.2±0.57*	
Bolos fecales			
Factor	gl	F	p
Nutrición	1,18	6	0.02
		Control	DPP
No. de bolos fecales	0	0.40±0.16*	

Figura 24. **A)** Valor medio \pm EEM de los pesos corporales al día de la prueba conductual (P90) de los animales sometidos a diferentes dietas, $*p < 0.05$. **B)** Valor medio \pm EEM de la frecuencia de entradas a los brazos, $*p < 0.05$. **C)** Valor medio \pm EEM del número de alternancias en 5 min, $*p < 0.05$. Tabla 2. Valor medio \pm EEM de la presencia del No. de gotas de orina y bolos fecales, se encontraron mayor número de gotas en los animales con DPP, de igual manera en los bolos fecales, que no se observaron en el grupo control ($*p < 0.05$).

Frecuencia de autoaseo y exploración del entorno

Los resultados de la prueba ANOVA sobre la frecuencia de autoaseo, se observó un aumento significativo de esta conducta, $F(1,18) = 25.06$; $p < 0.0001$, en el grupo DPP debido a la dieta (Figura 23).

En cuanto a la frecuencia de exploración del entorno, es decir, el tiempo en el que el animal está en dos patas, se observó una disminución significativa, $F(1,18) = 19.16$, $p < 0.001$; en las hembras del grupo DPP, debido a la dieta, (Figura 23).

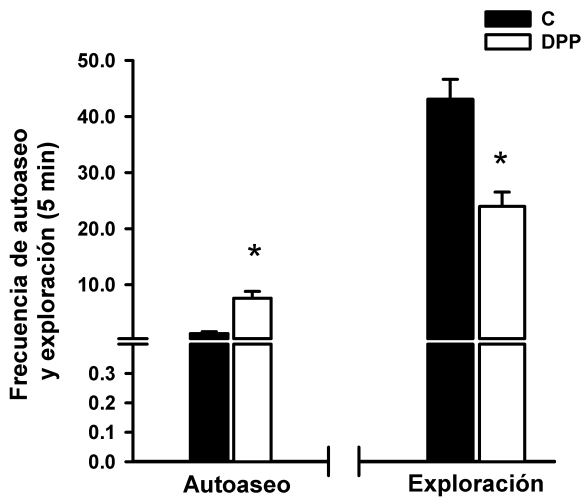


Figura 25. Valor medio \pm EEM de la frecuencia de autoaseo y exploración, $*p < 0.05$.

5. DISCUSIÓN

Los hallazgos más relevantes obtenidos en el desarrollo físico asociados a la desnutrición pre- y neonatal obtenidos en las crías F1, mostraron reducciones significativas en las ganancias del peso corporal a partir del día P20 hasta el P90 a pesar de seguir una dieta balanceada. Asimismo, en su peso corporal tomado antes de la gestación y en el primer día de su periodo de lactancia. También se obtuvieron reducciones significativas en el peso cerebral de las madres lactantes. Por otra parte, en un grupo complementario de sujetos con DPP se encontraron reducciones significativas en la mayoría de los valores tomados de diferentes diámetros corporales entre los días P5 al P90 a nivel del cráneo, del tronco, el largo de la cola y las extremidades que permiten confirmar los efectos de la restricción pre- y neonatal de alimento sobre el desarrollo físico de los sujetos experimentales.

La nutrición durante la gestación es de suma importancia para garantizar el desarrollo óptimo de las crías; la desnutrición materna en animales experimentales y en el ser humano se ha asociado con un tamaño placentario y un flujo sanguíneo reducidos en la circulación uterina y umbilical, lo que dificulta la transportación materno-fetal de nutrientes y de gases de la respiración que podrían afectar el crecimiento físico de la prole (Knipp et al., 1999). Asimismo, en un estudio realizado por Anderson y colaboradores (1980), se probaron los efectos de la restricción de alimento al 50% en diferentes fases de la gestación; observándose que los efectos en el peso de las crías eran mayores cuando la restricción se hacía desde la mitad de la gestación en adelante (10-21 días de gestación). Con el modelo de desnutrición aquí utilizado se abarca toda la gestación; lo que es coherente con los datos que se obtuvieron manteniéndose pesos más bajos de las crías con DPP. Por otro lado, la baja de peso corporal y la talla se reducen en los recién nacidos, cuando se trata del primer parto o en partos sucesivos siendo la madre pequeña en talla. En el presente estudio, parte de estas causales se tuvieron en las madres F0 y en los recién nacidos F1 que se encontraron en los experimentos realizados, que encuentran sustento en experimentos provenientes de otros estudios de la literatura (Florian & Nunes, 2011; Godfrey & Barker, 2000).

Los resultados son consistentes también con aquellos obtenidos en estudios previos que muestran que la desnutrición en etapas tempranas de la vida afecta el desarrollo corporal de los individuos. Así, la desnutrición durante la gestación provoca disminución en el crecimiento fetal, que continúa hasta después del nacimiento, esto es observable en la talla y el peso corporal. De igual manera, en estudios realizados empleando dietas con disminución proteínica dicha condición es persistente, afectando también la formación y funcionalidad de los órganos (Harding & Johnston, 1995; Godfrey & Barker, 2000; Wu, et al., 2004; Walker, et al., 2005). Al respecto, se han reconocido reducciones en el tamaño del corazón, hígado y riñones, lo cual está relacionado con los resultados de la reducción de peso por parte de las madres del grupo DPP, antes y después de la gestación.

Los efectos en las deficiencias de peso corporal se han observado incluso en generaciones posteriores, predisponiendo a nuevas generaciones al desarrollo de enfermedades físicas y mentales (Victora et al., 2008). Se han identificado alteraciones en las funciones metabólicas lo que predispone al desarrollo de enfermedades coronarias y diabetes, entre otras. En seres humanos se ha observado bajo peso al nacer de igual manera, también baja composición de grasa en el cuerpo, y desarrollo de insulina-resistencia acompañada de tallas disminuidas durante toda la vida del individuo (Hardikar et al., 2015).

En otros estudios se ha identificado disminución en el tamaño de los cerebros de los animales con DPP, sugiriéndose que la desnutrición como un agente estresante durante la gestación eleva los niveles de corticoides plasmáticos, lo que disminuye la presencia de hormona del crecimiento, afectando el desarrollo del cerebro del feto y por ende el funcionamiento del sistema nervioso central (Brennan et al., 2005; Lesage et al., 2006; Navarrete et al., 2007). A su vez, en un estudio utilizando desnutrición postnatal se observó, menor presencia de ADN en diferentes zonas del cerebro lo que sugería la menor formación de neuronas que físicamente se podían identificar con cerebros de menor peso (Culley & Lineberger, 1968). En otros estudios, se identificó disminución del número de células piramidales, del número total de sinapsis, con disminución en la eficiencia conductual en diferentes

pruebas cognitivas y a su vez el tamaño del cerebro de las crías se veía más afectado cuando la desnutrición se prolongaba más allá del periodo gestacional (Alamy & Bengelloun, 2012).

Los déficits nutricionales posnatales tempranos pueden impedir el crecimiento y la maduración del cerebro, así, en estudios en seres humanos se ha observado que cuando la materia gris cortical madura con el aumento de la edad postnatal, la glía radial desaparece y la complejidad de las conexiones aumenta lo que le da mayor volumen al cerebro. En animales desnutridos perinatalmente se ha observado disminución de la materia gris, lo que puede explicar los resultados obtenidos desde una perspectiva de maduración tardía (Keunen et al., 2015). Los efectos de la desnutrición fetal y neonatal también se ha observado que afectan la activación y síntesis de factores de crecimiento. De esta manera, diferentes estudios han vinculado las alteraciones del crecimiento cerebral por esos procesos y por la deficiencia de nutrimentos específicos en la dieta (Georgieff, 2007). Los resultados provenientes de estudios previos son similares con los obtenidos en la presente investigación, siendo quizás diferentes los mecanismos que explicarían la disminución en el crecimiento físico y cerebral.

Respecto a los efectos de la DPP sobre la conducta maternal, primeramente, fue evidente el efecto de la alterada construcción del nido, donde las diferencias fueron concluyentes en el día 4 de la lactancia, en el cual las madres del grupo DPP tuvieron nidos menos elaborados teniendo puntuaciones más bajas en comparación con los controles. En los primeros días posterior al nacimiento, el nido cumple con la función de protección y termorregulación de las crías (Denenberg et al., 1969; Rychlink & Korda, 1989), que al paso de los días, cuando las crías comienzan a tener mayor actividad éste puede ser destruido por ellas mismas, lo que correlaciona con las bajas puntuaciones obtenidas en el día postnatal 12 para ambos grupos experimentales, por lo cual ya no se observaron diferencias significativas.

Para la construcción del nido, la madre comienza a manejar el aserrín, esto incluso antes del nacimiento. Así, en las observaciones conductuales, las madres del grupo DPP realizaron con menor frecuencia esta actividad, sin embargo, la

duración después de iniciarla fue mayor, es decir, podría considerarse que el movimiento del aserrín se hacía de manera compulsiva más que con el fin de cumplir el propósito de la construcción del nido. Dicho comportamiento que denota compulsión es una característica frecuentemente observada en animales con desnutrición en etapas tempranas (Crnic, 1976; Crnic, 1980). El que realicen la actividad motriz durante mayor tiempo permite descartar la posibilidad de las alteraciones en los nidos por daño en el sistema motor de las madres, lo que ya se ha observado en otros trabajos donde estas alteraciones persisten únicamente alrededor del día P40 (Heredia et al., 2013; Lynch et al., 1975). Posterior a esta edad ya no se identifican diferencias significativas. De igual forma, en los animales con DPP se ha observado que son más ansiosos y se han considerado las conductas estereotipadas o repetitivas como posible consecuencia de dicha condición nutricional (Almeida, et al., 1993; Jaiswal, et al., 1999; Troakes & Ingram, 2009).

Las alteraciones en el acarreo de las crías fueron consistentes en los días de evaluación, así como, en la zona de acarreo utilizada por las madres DPP quienes tardan más tiempo en presentar la conducta, así como disminución en la frecuencia y la duración de ésta; además de que el acarreo lo realizan de zonas inadecuadas que frecuentemente lastiman a sus crías. Estudios previos muestran que la DPP interfiere gravemente con la creación del vínculo madre-camada, como lo indican la reducción del lamido anogenital, el contacto reducido con las crías, así como el acarreo desorganizado. De igual forma, el vínculo deficiente de la madre también afecta el crecimiento del cerebro del recién nacido, el desarrollo del comportamiento y el estrés, los cuales han estado asociados como fuente de trastornos mentales en etapas posteriores de la vida (Crnic, 1976; Fleming & Walsh, 1994; Smart, 1974).

Las alteraciones antes mencionadas en el comportamiento se pueden relacionar también con atrofia neuronal, incluyendo reducciones significativas en los perímetros de las neuronas piramidales del AC y mPFC, con efectos significativos reducidos en las mediciones neuronales multipolares de la BLA. Asimismo, en este estudio se observó reducción significativa en el número de ramificaciones, cruces dendríticos y números de espinas del AC y la mPFC en los días de lactancia 4 y 12,

con menores efectos en las neuronas de la BLA, excepto en la densidad de espinas que se redujeron de igual manera a las otras estructuras corticales.

Por otros estudios se ha mostrado que las madres con desnutrición temprana son propensas a presentar alteraciones en los procesos de la memoria, el aprendizaje y la respuesta materna, lo cual podría explicarse debido a que la información que viaja a lo largo de las dendritas y sus espinas está integrada a través de una red neuronal empobrecida para la plasticidad sináptica asociada con el cuidado materno (Campbell & Bedi, 1989; Córdoba, et al., 1994; Tonkiss, et al., 1990). Por otra parte, cuando se hicieron lesiones electrolíticas del AC y mPFC se describieron alteraciones en la construcción del nido y el acarreo de crías, que está posiblemente asociado a los trastornos en la integración de los circuitos maternos cortico-subcorticales. De igual forma, las lesiones del bulbo olfatorio y de la amígdala que producen aumento del comportamiento materno parecer ser ineficaces para compensar la respuesta maternal alterada, aunque el mecanismo (s) por lo que esto ocurre no tienen aún una explicación satisfactoria (Fleming & Rosenblatt, 1974; Nigrosh, et al., 1975).

Aunque las ratas con DPP redujeron significativamente el número de espinas en las neuronas de la BLA, con menores efectos en el árbol dendrítico y en el desarrollo de soma neuronal, a diferencia de las otras dos estructuras corticales donde los cambios fueron más consistentes. La posible explicación es diferente de acuerdo a la funcionalidad estructural y alteraciones causadas por el estrés de la deficiencia alimentaria, posiblemente este componente en la etapa prenatal podría afectar las conexiones de las neuronas piramidales y multipolares dentro del circuito materno, aumentando los niveles de glucocorticoides plasmáticos que reprograman el eje HPA de los neonatos con desnutrición temprana para dar respuestas conductuales no adaptativas (Curtis et al., 2011; Garey et al., 1998; Leuner et al., 2014; Murmu et al., 2006). Esta posibilidad puede estar respaldada por las alteraciones a largo plazo asociadas con la desnutrición temprana y los estresores sociales de la respuesta materna, interacciones sociales empobrecidas o perturbadas, mayor respuesta a estímulos novedosos, aprendizaje deficiente,

disminución del comportamiento exploratorio y trastornos cerebrales (Beery & Kaufer, 2015; Cook & Wellman, 2004; Salas, et al., 2017; Smart, 1976). De igual forma, evidencia reciente sugiere que los trastornos del estado de ánimo como la depresión y ansiedad, pueden implicar disminución de las espinas dendríticas y otras alteraciones sinápticas dentro de la mPFC (Duman & Aghajanian, 2012).

De igual manera, los resultados podrían correlacionar con efectos neuronales hipoplásicos en las estructuras maternas que en forma significativa y diferencial pueden afectar los umbrales y la propagación de los potenciales de acción, interrumpiendo la elaboración de la plasticidad sináptica necesaria para las respuestas cognitivas. Sin embargo, se requieren análisis más profundos que incluyan diferentes tipos neuronales para la integración materna, edades de madres lactantes, paridad de madres, experiencia social y niveles de estrés para comprender el papel de la atrofia neuronal asociada con la desnutrición temprana y la respuesta materna alterada.

Las alteraciones conductuales observadas en el laberinto en T son una muestra de que previamente a los cambios plásticos de la maternidad, están presentes cambios asociados a otros tipos de experiencias que conforman lo que conocemos como repertorio conductual de los animales. La disminución de las capacidades de alternancia por parte de las hembras con DPP, puede relacionarse con el daño en estructuras involucradas en la memoria de trabajo (Richman et al., 1986), de la misma forma en la que la respuesta materna se ve alterada (Laughlin et al., 1983), por el daño estructural en la mPFC, el AC o la BLA, que son clave en el funcionamiento del circuito materno. De igual forma el grupo con DPP, tuvo respuestas fisiológicas que son índices de diferentes niveles de estrés, como la presencia del depósito de mayor orina y bolos fecales durante la prueba, así como disminución de la exploración con aumento del autoaseo. De varios estudios se sabe que la exposición a situaciones estresantes en las primeras etapas de la vida puede reorganizar la programación del eje HPA, afectando así el carácter adaptativo de las respuestas del organismo a las demandas ambientales (Charil et al., 2010; Lesage et al., 2006; Vieau et al., 2007). Los efectos dañinos del estrés materno en

el desarrollo de las crías involucran una serie de mecanismos, particularmente, niveles elevados de glucocorticoides, que pueden atravesar la placenta o transmitirse mediante la leche, así como, cambios inducidos por glucocorticoides en el comportamiento materno que afectan en el largo plazo el comportamiento de las crías (Barbazanges et al., 1996; Cottrell, 2009; Weinstock, 2008). De esta forma, el daño por el estrés causado por la desnutrición puede explicar la poca eficiencia en la tareas conductuales que se les impuso, debido a que las situaciones estresantes pueden dañar estructuras del SNC limitando procesos cognitivos relevantes como la memoria y el aprendizaje (Bock et al., 2005; Kehoe et al., 2001; Macrì & Würbel, 2006; Nishi et al., 2014; Radley et al., 2009).

A su vez, la disminución en el tiempo de exploración de los brazos por parte de las hembras con DPP, puede afectar la consolidación del proceso de memoria espacial (Jordan et al., 1981; Parsons et al., 2015), ya que no logran tener los estímulos suficientes para recordar. Esto puede ser por alteraciones de estructuras involucradas en este proceso como el hipocampo, el área septal y la corteza prefrontal, entre otras. A diferencia a lo que ocurre con la exploración de las madres con DPP, donde la exploración aumenta, aunque esta conducta afecta la atención en las crías con la disminución de conductas de cuidado hacia la progenie.

Los mecanismos implicados en la generación de las alteraciones del tejido nervioso involucrados en la expresión de la conducta debido a la desnutrición son complejos, ya que son muchas las variables inmersas en dicha situación. Sin embargo, reconocer la problemática desde una vertiente de múltiples causas, ayuda a entender el daño morfológico y funcional y alienta a la búsqueda de mejores alternativas para la prevención y recuperación en el corto y largo plazo.

6. CONCLUSIONES

1. La DPP interfiere con el desarrollo corporal generando deficiencias a corto y largo plazo en el ensamblaje y funcionamiento de diferentes aparatos y sistemas, que limitan las capacidades sensoriales, sociales e intelectuales alterando mecanismos homeostáticos esenciales para mantener la salud.
2. El estudio muestra alteraciones plásticas en la arquitectura del SNC como los árboles dendríticos y el número de espinas del AC, mPFC y la BLA, que alteran procesos de integración y generación de impulsos nerviosos codificados esenciales, para la expresión de funciones adaptativas.
3. Estas alteraciones en el largo plazo trastornan la expresión de diferentes componentes de la respuesta maternal (construcción del nido y acarreo), y el desempeño en el laberinto en T que reflejan deficiencias para la expresión de los procesos cognitivos.
4. Se identifica la importancia de factores ambientales (epigenéticos) como la nutrición, el estrés y los cuidados maternos diferenciales en el deterioro de los procesos cognitivos, así como su efecto en etapas tempranas del desarrollo para mantener la homeostasis cerebral.

BIBLIOGRAFÍA

- Afonso, V. M., Sison, M., Lovic, V., & Fleming, A. S. (2007). Medial prefrontal cortex lesions in the female rat affect sexual and maternal behavior and their sequential organization. *Behavioral Neuroscience*, *121*(3), 515–526. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.121.3.515>
- Alamy, M., & Bengelloun, W. (2012). Malnutrition and brain development: An analysis of the effects of inadequate diet during different stages of life in rat. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *36*(6), 1463–1480. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.03.009>
- Alberts, J. A., & Cramer, C. P. (2009). Ecology and Experience: Sources of Means and Meaning of Developmental Change. In *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Retrieved from [papers3://publication/uuid/793757E7-54C1-4D46-8B4E-5693CEA16759](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19375757/)
- Almeida, S. S., Garcia, R. A., & de Oliveira, L. M. (1993). Effects of early protein malnutrition and repeated testing upon locomotor and exploratory behaviors in the elevated plus-maze. *Physiology & Behavior*, *54*(4), 749–752. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(93\)90086-U](https://doi.org/10.1016/0031-9384(93)90086-U)
- Anderson, G. D., Ahokas, R. A., Lipshitz, J., & Dilts, P. V. J. (1980). Effect of maternal dietary restriction during pregnancy on maternal weight gain and fetal birth weight in the rat. *Journal of Nutrition*, 883–890.
- Barbazanges, A., Piazza, P. V, Le Moal, M., & Maccari, S. (1996). Maternal glucocorticoid secretion mediates long-term effects of prenatal stress. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *16*(12), 3943–3949. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8656288>
- Bedi, K. S. (1994). Undernutrition of rats during early life does not affect the total number of cortical neurons. *The Journal of Comparative Neurology*, *342*(4), 596–602.
- Beery, A. K., & Kaufer, D. (2015). Stress, social behavior, and resilience: Insights from rodents. *Neurobiology of Stress*, *1*(1), 116–127. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2014.10.004>
- Belkacemi, L., Nelson, D. M., Desai, M., & Ross, M. G. (2010). Maternal undernutrition influences placental-fetal development. *Biology of Reproduction*, *83*(3), 325–331. [https://doi.org/https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.084517](https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.084517)
- Black, R. E., Allen, L. H., Bhutta, Z. A., Caulfield, L. E., de Onis, M., Ezzati, M., ... Rivera, J. (2008). Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *The Lancet*, Vol. 371, pp. 243–260. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61690-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61690-0)
- Bock, J., Gruss, M., Becker, S., & Braun, K. (2005). Experience-induced changes of

- dendritic spine densities in the prefrontal and sensory cortex: correlation with developmental time windows. *Cerebral Cortex*, 15(6), 802–808. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhh181>
- Brennan, K. A., Gopalakrishnan, G. S., Kurlak, L., Rhind, S. M., Kyle, C. E., Brooks, A. N., ... Symonds, M. E. (2005). Impact of maternal undernutrition and fetal number on glucocorticoid, growth hormone and insulin-like growth factor receptor mRNA abundance in the ovine fetal kidney. *Reproduction*, 129(2), 151–159. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00229>
- Brewster, J., & Leon, M. (1980). Facilitation of maternal transport by Norway rat pups. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 94(1), 80–88. <https://doi.org/10.1037/h0077645>
- Brouette-Lahlou, I., Vernet-Maury, E., & Vigouroux, M. (1992). Role of pups' ultrasonic calls in a particular maternal behavior in Wistar rat: pups' anogenital licking. *Behavioural Brain Research*, 50(1–2), 147–154. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(05\)80296-7](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(05)80296-7)
- Brown, A. S., Van Os, J., Driessens, C., Hoek, H. W., & Susser, E. S. (2000). Further evidence of relation between prenatal famine and major affective disorder. *American Journal of Psychiatry*, 157(2), 190–195. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.2.190>
- Brown, J. R., Ye, H., Bronson, R. T., Dikkes, P., & Greenberg, M. E. (1996). A defect in nurturing in mice lacking the immediate early gene fosB. *Cell*, 86(2), 297–309. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80101-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80101-4)
- Brown, M. F., & Giumetti, G. W. (2006). Spatial pattern learning in the radial arm maze. *Learning & Behavior: A Psychonomic Society Publication*, 34(1), 102–108. <https://doi.org/10.3758/BF03192875>
- Brown, M. L., & Guthrie, H. a. (1968). Effect of severe undernutrition in early life upon body and organ weights in adult rats. *Growth*, 32(2), 143–151.
- Brunjes, P. C., Illig, K. R., & Meyer, E. a. (2005). A field guide to the anterior olfactory nucleus (cortex). *Brain Research Reviews*, 50(2), 305–335. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2005.08.005>
- Campbell, L. F., & Bedi, K. S. (1989). The effects of undernutrition during early life on spatial learning. *Physiology and Behavior*, 45(5), 883–890. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9384\(89\)90210-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9384(89)90210-2)
- Champagne, F. A., & Curley, J. P. (2009). Epigenetic mechanisms mediating the long-term effects of maternal care on development. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 33(4), 593–600. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.10.009>
- Charil, A., Laplante, D. P., Vaillancourt, C., & King, S. (2010). Prenatal stress and brain development. *Brain Research Reviews*, 65(1), 56–79. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2010.06.002>
- Cook, S. C., & Wellman, C. L. (2004). Chronic stress alters dendritic morphology in

- rat medial prefrontal cortex. *Journal of Neurobiology*, 60(2), 236–248. <https://doi.org/10.1002/neu.20025>
- Córdoba, N. E., Arolfo, M. P., Brioni, J. D., & Orsingher, O. A. (1994). Perinatal undernutrition impairs spatial learning in recovered adult rats. *Acta Physiologica, Pharmacologica Et Therapeutica Latinoamericana*, 44(3), 70–76. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7663016>
- Cottrell, E. C. (2009). Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of adult disease. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 3. <https://doi.org/10.3389/neuro.08.019.2009>
- Crnic, L. (1976). Maternal behavior in the undernourished rat (*Rattus norvegicus*). *Physiology & Behavior*, 16(6), 677–680. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9384\(76\)90235-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9384(76)90235-3)
- Crnic, L. S. (1976). Effects of infantile undernutrition on adult learning in rats: methodological and design problems. *Psychological Bulletin*, 83(4), 715–728. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.83.4.715>
- Crnic, Linda Smith. (1980). Models of infantile malnutrition in rats: Effects on maternal behavior. *Developmental Psychobiology*, 13(6), 615–628. <https://doi.org/10.1002/dev.420130607>
- Culley, W. J., & Lineberger, R. O. (1968). Effect of undernutrition on the size and composition of the rat brain. *The Journal of Nutrition*, 96(3), 375–381.
- Cummings, J. A., Clemens, L. G., & Nunez, A. A. (2010). Mother counts: How effects of environmental contaminants on maternal care could affect the offspring and future generations. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31(4), 440–451. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2010.05.004>
- Curtis, G., Sung J., & Rogers, J. (2011). Maternal influences on epigenetic programming of the developing hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Birth Defects Research Part A*, 91(8), 797–805. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/bdra.20824>
- Darnaudéry, M., Perez-Martin, M., Del Favero, F., Gomez-Roldan, C., Garcia-Segura, L. M., & Maccari, S. (2007). Early motherhood in rats is associated with a modification of hippocampal function. *Psychoneuroendocrinology*, 32(7), 803–812. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.05.012>
- Deacon, R. M. J., & Rawlins, J. N. P. (2006). T-maze alternation in the rodent. *Nature Protocols*, 1(1), 7–12. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.2>
- Denenberg, V. H., Taylor, R. E., & Zarrow, M. X. (1969). Maternal behavior in the rat: an investigation and quantification of nest building. *Behaviour*, 34(1), 1–16. <https://doi.org/10.1163/156853969X00369>
- Desai, M., & Hales, C. N. (1997). Role of fetal and infant growth in programming metabolism in later life. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 72(2), 329–348. <https://doi.org/10.1017/s0006323196005026>

- Dudchenko, P. A. (2004). An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28(7), 699–709. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.002>
- Duman, R. S., & Aghajanian, G. K. (2012). Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets. *Science (New York, N.Y.)*, 338(6103), 68–72. <https://doi.org/10.1126/science.1222939>
- Escalada, J., Cacicedo, L., Ortego, J., Melian, E., & Sánchez-Franco, F. (1996). Prolactin gene expression and secretion during pregnancy and lactation in the rat: role of dopamine and vasoactive intestinal peptide. *Endocrinology*, 137(2), 631–637. <https://doi.org/10.1210/en.137.2.631>
- Escobar, C., & Salas, M. (1993). Neonatal undernutrition and amygdaloid nuclear complex development: an experimental study in the rat. *Experimental Neurology*, Vol. 122, pp. 311–318. <https://doi.org/10.1006/exnr.1993.1130>
- Espósito, G., Yoshida, S., Ohnishi, R., Tsuneoka, Y., Del Carmen Rostagno, M., Yokota, S., ... Kuroda, K. O. (2013). Infant calming responses during maternal carrying in humans and mice. *Current Biology*, 23(9), 739–745. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.03.041>
- Fleischer, S., & Slotnick, B. (1978). Disruption of maternal behavior in rats with lesions of the septal area. *Physiology & Behavior*, 21(2), 189–200. [https://doi.org/0031-9384\(78\)90041-0](https://doi.org/0031-9384(78)90041-0) [pii]
- Fleming, A. S., & Rosenblatt, J. S. (1974). Maternal behavior in the virgin and lactating rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 86(5), 957–972. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1037/h0036414>
- Fleming, A. S., & Sarker, J. (1990). Experience-hormone interactions and maternal behavior in rats. *Physiology & Behavior*, 47(6), 1165–1173. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(90\)90368-E](https://doi.org/10.1016/0031-9384(90)90368-E)
- Fleming, A. S., Vaccarino, F., & Luebke, C. (1980). Amygdaloid Inhibition of Maternal-Behavior in the Nulliparous Female Rat. *Physiology & Behavior*, 25(5), 731–743.
- Fleming, A., & Walsh, C. (1994). Neuropsychology of maternal behavior in the rat: c-Fos expression during mother-litter interactions. *Psychoneuroendocrinology*, 19(5–7), 429–443. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0306-4530\(94\)90030-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0306-4530(94)90030-2)
- Florian, M. L., & Nunes, M. L. (2011). Effects of intra-uterine and early extra-uterine malnutrition on seizure threshold and hippocampal morphometry of pup rats. *Nutritional Neuroscience*, 14(4), 151–158. <https://doi.org/10.1179/147683010X12611460764804>
- Garey, L. J., Ong, W. Y., Patel, T. S., Kanani, M., Davis, A., Mortimer, A. M., ... Hirsch, S. R. (1998). Reduced dendritic spine density on cerebral cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 65(4), 446–453. <https://doi.org/10.1136/jnnp.65.4.446>

- Georgieff, M. K. (2007). Nutrition and the developing brain: nutrient priorities and measurement. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85(2), 614–620. <https://doi.org/10.1038/266751a0>
- Giussani, D. A. (2011). The vulnerable developing brain The Physiology of the “ Fetal Brain Sparing ” Response Maternal Undernutrition and the Primate Fetal Brain Long-Term Consequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(7), 2641–2642. Retrieved from <http://www.pnas.org/content/108/7/2641.full>
- Godfrey, K. M., & Barker, D. J. P. (2000). Fetal nutrition and adult disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(5), 224–225. <https://doi.org/doi.wiley.com/10.1111/j.1365-277X.2005.00612.x>
- Gonzalez-Mariscal, G., Chirino, R., Carlos, B., & Rosenblatt, J. S. (2004). Removal of the accessory olfactory bulbs promotes maternal behavior in virgin rabbits. *Behavioural Brain Research*, 152(1), 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.036>
- Hardikar, A. A., Satoor, S. N., Karandikar, M. S., Joglekar, M. V., Puranik, A. S., Wong, W., ... Yajnik, C. S. (2015). Multigenerational Undernutrition Increases Susceptibility to Obesity and Diabetes that Is Not Reversed after Dietary Recuperation. *Cell Metabolism*, 22(2), 312–319. <https://doi.org/doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2015.06.008>
- Harding, J. E., & Johnston, B. M. (1995). Nutrition and fetal growth. *Reproduction, Fertility and Development*, 7(3), 539–547. <https://doi.org/10.1071/RD9950539>
- Heredia, M., Fuente, A., Criado, J., Yajeya, J., Devesa, J., & Riobobos, A. S. (2013). Early growth hormone (GH) treatment promotes relevant motor functional improvement after severe frontal cortex lesion in adult rats. *Behavioural Brain Research*, 247, 48–58. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.03.012>
- Huang, C., Phillips, M. R., Zhang, Y., Zhang, J., Shi, Q., Song, Z., ... Martorell, R. (2013). Malnutrition in early life and adult mental health: evidence from a natural experiment. *Social Science & Medicine (1982)*, 97, 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2012.09.051>
- Insel, T. R., & Young, L. J. (2001). The neurobiology of attachment. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(2), 129–136. <https://doi.org/10.1038/35053579>
- Ishimura, K., Takeuchi, Y., Fujiwara, K., Yoshioka, H., Sawada, T., & Kusunoki, T. (1989). Effects of undernutrition on the serotonin neuron system in the developing brain: an immunohistochemical study. *Developmental Brain Research*, (50), 225–231.
- Jacobson, C. D., Terkel, J., Gorski, R. a., & Sawyer, C. H. (1980). Effects of small medial preoptic area lesions on maternal behavior: Retrieving and nest building in the rat. *Brain Research*, 194(2), 471–478. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(80\)91226-3](https://doi.org/10.1016/0006-8993(80)91226-3)
- Jaiswal, a K., Upadhyay, S. N., Satyan, K. S., & Bhattacharya, S. K. (1999). Comparative effects of prenatal and postnatal undernutrition on learning and

- memory in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 37(1), 17–22.
- Jordan, T. C., Cane, S. E., & Howells, K. F. (1981). Deficits in spatial memory performance induced by early undernutrition. *Developmental Psychobiology*, 14(4), 317–325. <https://doi.org/10.1002/dev.420140404>
- Kehoe, P., Mallinson, K., Bronzino, J., & McCormick, C. M. (2001). Effects of prenatal protein malnutrition and neonatal stress on CNS responsiveness. *Developmental Brain Research*, 132(1), 23–31. [https://doi.org/10.1016/S0165-3806\(01\)00292-9](https://doi.org/10.1016/S0165-3806(01)00292-9)
- Keunen, K., van Elburg, R. M., van Bel, F., & Benders, M. J. N. L. (2015). Impact of nutrition on brain development and its neuroprotective implications following preterm birth. *Pediatric Research*, 77(1–2), 148–155. <https://doi.org/10.1038/pr.2014.171>
- Kinsley, C. H., & Amory-Meyer, E. (2011). Why the maternal brain? *Journal of Neuroendocrinology*, 23(11), 974–983. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02194.x>
- Kinsley, Craig H., & Meyer, E. a. (2010). The construction of the maternal brain: theoretical comment on Kim et al. (2010). *Behavioral Neuroscience*, 124(5), 710–714. <https://doi.org/10.1037/a0021057>
- Knipp, G. T., Audus, K. L., & Soares, M. J. (1999). Nutrient transport across the placenta. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 38(1), 41–58. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(99\)00005-8](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(99)00005-8)
- Kristal, M. B. (2009). The biopsychology of maternal behavior in nonhuman mammals. *ILAR Journal / National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources*, 50(1), 51–63. <https://doi.org/10.1093/ilar.50.1.51>
- Lalonde, R. (2002). The neurobiological basis of spontaneous alternation. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26(1), 91–104. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(01\)00041-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(01)00041-0)
- Laughlin, N. K., Finger, S., & Bell, J. (1983). Early undernutrition and later hippocampal damage: Effects on spontaneous behaviors and reversal learning. *Physiological Psychology*, 11(4), 269–277. <https://doi.org/10.3758/BF03326806>
- Lemaire, V., Billard, J. M., Dutar, P., George, O., Piazza, P. V., Epelbaum, J., ... Mayo, W. (2006). Motherhood-induced memory improvement persists across lifespan in rats but is abolished by a gestational stress. *European Journal of Neuroscience*, 23(12), 3368–3374. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04870.x>
- Lesage, J., Sebaai, N., Leonhardt, M., Dutriez-Casteloot, I., Breton, C., Deloof, S., & Vieau, D. (2006). Perinatal maternal undernutrition programs the offspring hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. *Stress*, 9(4), 183–198. <https://doi.org/10.1080/10253890601056192>
- Leuner, B., Fredericks, P. J., Nealer, C., & Albin-Brooks, C. (2014). Chronic gestational stress leads to depressive-like behavior and compromises medial

- prefrontal cortex structure and function during the postpartum period. *Public Library of Science*, 9(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089912>
- Leuner, B., & Gould, E. (2010). Dendritic growth in medial prefrontal cortex and cognitive flexibility are enhanced during the postpartum period. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(40), 13499–13503. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3388-10.2010>
- Lonstein, J. S., & Stern, J. M. (1997). Role of the midbrain periaqueductal gray in maternal nurturance and aggression: c-fos and electrolytic lesion studies in lactating rats. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 17(9), 3364–3378.
- Lynch, A., Smart, J. ., & Dobbing, J. (1975). Motor co-ordination and cerebellar size in adult rats undernourished in early life. *Brain Research*, 83, 249–259.
- Macri, S., & Würbel, H. (2006). Developmental plasticity of HPA and fear responses in rats: a critical review of the maternal mediation hypothesis. *Hormones and Behavior*, 50(5), 667–680. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2006.06.015>
- Mann, P. (2014). Gene Expression Profiling during Pregnancy in Rat Brain Tissue. *Brain Sciences*, 4(1), 125–135. <https://doi.org/10.3390/brainsci4010125>
- Márquez-González, H., García-Sámamo, V. M., Lourdes, M. De, García-Villegas, E. A., Márquez-flores, H., Villa-romero, A. R., ... Tel, M. (2012). Clasificación y evaluación de la desnutrición en el paciente pediátrico. *El Residente*, 7(271), 59–69.
- Modgil, S., Lahiri, D. K., Sharma, V. L., & Anand, A. (2014). Role of early life exposure and environment on neurodegeneration: implications on brain disorders. *Translational Neurodegeneration*, 3(1), 9. <https://doi.org/10.1186/2047-9158-3-9>
- Morgan, B. L. G., & Naismith, D. J. (1982). The effect of early postnatal undernutrition on the growth and development of the rat brain. *British Journal of Nutrition*, 48(15), 15–23.
- Morgane, P. J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Díaz-Cintra, S., Cintra, L., ... Galler, J. R. (1993). Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 17(1), 91–128. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(05\)80234-9](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(05)80234-9)
- Morris, S. S., Cogill, B., & Uauy, R. (2008). Effective international action against undernutrition: why has it proven so difficult and what can be done to accelerate progress? *The Lancet*, 371(9612), 608–621. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61695-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61695-X)
- Murmu, M. S., Salomon, S., Biala, Y., Weinstock, M., Braun, K., & Bock, J. (2006). Changes of spine density and dendritic complexity in the prefrontal cortex in offspring of mothers exposed to stress during pregnancy. *European Journal of Neuroscience*, 24(5), 1477–1487. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1460->

9568.2006.05024.x

- Murphy, M. R., MacLean, P. D., & Hamilton, S. C. (1981). Species-typical behavior of hamsters deprived from birth of the neocortex. *Science (New York, N. Y.)*, Vol. 213, pp. 459–461. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7244642>
- Navarrete, M., Núñez, H., Ruiz, S., Soto-Moyano, R., Valladares, L., White, A., & Pérez, H. (2007). Prenatal undernutrition decreases the sensitivity of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in rat, as revealed by subcutaneous and intra-paraventricular dexamethasone challenges. *Neuroscience Letters*, 419(2), 99–103. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.04.019>
- Nigrosh, B. J., Slotnick, B. M., & Nevin, J. a. (1975). Olfactory discrimination, reversal learning, and stimulus control in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 89(4), 285–294. <https://doi.org/10.1037/h0076821>
- Nishi, M., Horii-Hayashi, N., & Sasagawa, T. (2014). Effects of early life adverse experiences on the brain: Implications from maternal separation models in rodents. *Frontiers in Neuroscience*, 8(8 JUN), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00166>
- Nishitani, S., Kuwamoto, S., Takahira, A., Miyamura, T., & Shinohara, K. (2014). Maternal prefrontal cortex activation by newborn infant odors. *Chemical Senses*, 39(3), 195–202. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjt068>
- Numan, M, Morrell, J. I., & Pfaff, D. W. (1985). Anatomical identification of neurons in selected brain regions associated with maternal behavior deficits induced by knife cuts of the lateral hypothalamus in rats. *The Journal of Comparative Neurology*, 237(4), 552–564. <https://doi.org/10.1002/cne.902370411>
- Numan, Michael, Bress, J. A., Ranker, L. R., Gary, A. J., DeNicola, A. L., Bettis, J. K., & Knapp, S. E. (2010). The importance of the basolateral/basomedial amygdala for goal-directed maternal responses in postpartum rats. *Behavioural Brain Research*, 214(2), 368–376. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.06.006>
- Parsons, R. G., Ressler, K. J., Rothbaum, B. O., Kearns, M. C., Price, M., Malcoun, E., ... Ressler, K. (2015). Early Intervention following Trauma Mitigates genetic Risk for PTSD in Civilians: A Prospective, Emergency Department Study. In *Biological Psychiatry* (Vol. 77). <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.03.006>
- Pascual-Leone, A., Amedi, A., Fregni, F., & Merabet, L. B. (2005). The plastic human brain cortex. *Annual Review of Neuroscience*, 28, 377–401. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.27.070203.144216>
- Penley, S. C., Gaudet, C. M., & Threlkeld, S. W. (2013). Use of an eight-arm radial water maze to assess working and reference memory following neonatal brain injury. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, (82), 50940. <https://doi.org/10.3791/50940>
- Pilyoung, K., Leckman, J. F., Mayes, L. C., Feldman, R., Wang, X., Swain, J. E., ... Swain, J. E. (2010). The Plasticity of Human Maternal Brain: Longitudinal

Changes in Brain Anatomy During the Early Postpartum Period. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 124(5), 1–14. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2008.02497.x>. Plasma

Radley, J. J., Rocher, A. B., Rodriguez, A., Douglas, B., Dammann, M., McEwen, B. S., ... Hof, P. R. (2009). Repeated Stress Alters Dendritic Spine Morphology. *Journal of Comparative Neurology*, 507(1), 1141–1150. <https://doi.org/10.1002/cne.21588>. REPEATED

Ravelli, a. C. J., Van Der Meulen, J. H. P., Michels, R. P. J., Osmond, C., Barker, D. J. P., Hales, C. N., & Bleker, O. P. (1998). Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet*, 351(9097), 173–177. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)07244-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)07244-9)

Rhind, S. M., Rae, M. T., & Nigel Brooks, a. (2001). Effects of nutrition and environmental factors on the fetal programming of the reproductive axis. *Reproduction*, 122(2), 205–214. <https://doi.org/10.1530/reprod/122.2.205>

Rice, D., & Barone, S. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: Evidence from humans and animal models. *Environmental Health Perspectives*. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108s3511>

Richman, C. L., Dember, W. N., & Kim, P. (1986). Spontaneous alternation behavior in animals: A review. *Current Psychology*, 5(4), 358–391. <https://doi.org/10.1007/BF02686603>

Rocha, J. B. T., Soares, F. A. A., & de Mello, C. F. (2002). Influence of the test situation on pup retrieval behavior of normal and undernourished lactating rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 35(1), 91–97. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2002000100013>

Rosenblatt, J. S., Mayer, A. D., & Giordano, A. L. (1988). Hormonal basis during pregnancy for the onset of maternal behavior in the rat. *Psychoneuroendocrinology*, 13(1–2), 29–46. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0306-4530\(88\)90005-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0306-4530(88)90005-4)

Rychlink, L., & Korda, P. (1989). Nest building activity as thermoprotective maternal behaviour in rats. *Acta Theoriologica*, 34(20), 287–303.

Sabihi, S., Dong, S. M., Durosko, N. E., & Leuner, B. (2014). Oxytocin in the medial prefrontal cortex regulates maternal care, maternal aggression and anxiety during the postpartum period. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00258>

Salas, M., Regalado, M., Torrero, C., & Rubio, L. (2017). Maternal alterations induced by exposure to an unfamiliar home cage in early underfed dams. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 62, 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2017.07.005>

Salas, M., Torrero, C., Regalado, M., & Perez, E. (2002). Retrieving of pups by neonatally stressed mothers. *Nutritional Neuroscience*, 5(6), 399–405. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/1028415021000055943>

- Salcedo, C., Torrero, C., Regalado, M., Rubio, L., & Salas, M. (2018). Effects of pre- and neonatal undernutrition on the kyphotic response and c-Fos activity in the caudal periaqueductal gray of primiparous lactating Wistar rats. *Physiology and Behavior*, *185*, 87–94. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.12.020>
- Slotnick, B. (1967). Disturbances of maternal behavior in the rat following lesions of the cingulate cortex. *Behaviour*, *29*(2/4), 204–236. <https://doi.org/10.1163/156853967X00127>
- Slotnick, B. M., & Nigrosh, B. J. (1975). Maternal behavior of mice with cingulate cortical, amygdala, or septal lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *88*(1), 118–127. <https://doi.org/10.1037/h0076200>
- Smart, J. L. (1974). Activity and exploratory behavior of adult offspring of undernourished mother rats. *Developmental Psychobiology*, *7*(4), 315–321. <https://doi.org/10.1002/dev.420070408>
- Smart, J. L. (1976). Maternal behaviour of undernourished mother rats towards well fed and underfed young. *Physiology & Behavior*, *16*(2), 147–149. [https://doi.org/doi:10.1016/0031-9384\(76\)90298-5](https://doi.org/doi:10.1016/0031-9384(76)90298-5)
- Stamm, J. S. (1955). The function of the median cerebral cortex in maternal behavior of rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *48*(4), 347–356. <https://doi.org/10.1037/h0042977>
- Stern, J., & Lonstein, J. (2001). Neural mediation of nursing and related maternal behaviors. *Progress in Brain Research*, *133*, 263–278. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(01\)33020-0](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(01)33020-0)
- Stern, J. M., & Kolunie, J. M. (1991). Trigeminal lesions and maternal behavior in Norway rats: I. Effects of cutaneous rostral snout denervation on maintenance of nurturance and maternal aggression. *Behavioral Neuroscience*, *105*(6), 984–997. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.105.6.984>
- Tonkiss, J., Galler, J. R., Shukitt-Hale, B., & Rocco, F. J. (1991). Prenatal protein malnutrition impairs visual discrimination learning in adult rats. *Psychobiology*, *19*(3), 247–250. <https://doi.org/10.3758/BF03332075>
- Tonkiss, J., Shukitt-Hale, B., Formica, R. N., Rocco, F. J., & Galler, J. R. (1990). Prenatal protein malnutrition alters response to reward in adult rats. *Physiology and Behavior*, *48*(5), 675–680. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(90\)90210-U](https://doi.org/10.1016/0031-9384(90)90210-U)
- Troakes, C., & Ingram, C. D. (2009). Anxiety behaviour of the male rat on the elevated plus maze: associated regional increase in c-fos mRNA expression and modulation by early maternal separation. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, *12*(4), 362–369. <https://doi.org/10.1080/10253890802506391>
- Victora, C. G., Adair, L., Fall, C., Hallal, P. C., Martorell, R., Richter, L., & Sachdev, H. S. (2008). Maternal and child undernutrition: consequences for adult health and human capital. *The Lancet*, *371*, 340–357. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61692-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61692-4)

- Vieau, D., Sebaai, N., Léonhardt, M., Dutriez-Casteloot, I., Molendi-Coste, O., Laborie, C., ... Lesage, J. (2007). HPA axis programming by maternal undernutrition in the male rat offspring. *Psychoneuroendocrinology*, 32(SUPPL 1). <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.03.014>
- Wainwright, P. E., & Colombo, J. (2006). Nutrition and the development of cognitive functions: interpretation of behavioral studies in animals and human infants. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(5), 961–970.
- Walker, S. P., Chang, S. M., Powell, C. A., & Grantham-McGregor, S. M. (2005). Effects of early childhood psychosocial stimulation and nutritional supplementation on cognition and education in growth-stunted Jamaican children: Prospective cohort study. *Lancet*, 366(9499), 1804–1807. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67574-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67574-5)
- Weinstock, M. (2008). The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, Vol. 32, pp. 1073–1086. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.03.002>
- WHO. (2018). Malnutrición. Retrieved from <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition>
- Wilson, C., Nungaray, K., Garza, M., Raska, J., Kercher, M., & Lutterschmidt, W. I. (2008). Sit down and stay here! Transport response elicitation modulates subsequent activity in rat pups. *Behavioural Processes*, 77(1), 131–134. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2007.06.007>
- Wu, G., Bazer, F. W., Cudd, T. A., Meininger, C. J., & Spencer, T. E. (2004). Maternal nutrition and fetal development. *The Journal of Nutrition*, 134(13), 2169–2172. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jn/134.9.2169>