

# EFEKTOS DE LA SUBNUTRICIÓN DURANTE LA GESTACIÓN Y LA LACTACIÓN SOBRE LA MORFOLOGÍA DEL HIPOCAMPO Y LA MEMORIA ESPACIAL EN RATAS DE 365 DÍAS DE VIDA

## EFFECTS OF PREGNANCY AND LACTATION UNDERNUTRITION ON HIPPOCAMPUS MORPHOLOGY AND SPATIAL MEMORY IN 365-DAY-OLD RATS

## EFEITOS DA SUBNUTRIÇÃO DURANTE A GESTAÇÃO E A LACTAÇÃO SOBRE A MORFOLOGIA DO HIPOCAMPO E A MEMÓRIA ESPACIAL EM RATOS DE 365 DIAS DE VIDA

RECIBIDO: 16 marzo 2025

/

ACEPTADO: 30 abril 2025

Patricia Genovese<sup>1</sup> Eva Genovese<sup>1</sup> Emiliano Herrera<sup>1</sup> Martín Duque<sup>1</sup> Alejandro Bielli<sup>1</sup> Paul Ruiz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unidad Académica de Histología y Embriología, Departamentos de Biociencias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay.

<sup>2</sup> Unidad Académica de Fisiología, Departamentos de Biociencias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay.

### RESUMEN

La subnutrición proteínica en el período perinatal produce alteraciones en la morfología del hipocampo y deterioro de las habilidades cognitivas en ratas adultas. En el presente trabajo se estimó el tiempo y errores cometidos en un laberinto por ratas Wistar, macho de 365 días de edad, que nacieron de madres nutridas con una dieta ad libitum o subnutridas con una restricción del 50% del alimento ad libitum durante la gestación.

Al nacimiento todas las madres pasaron a comer ad libitum, pero a los nacidos de madres tratadas con subnutrición en la gestación, lactaron en camadas más grandes para que el tratamiento de penuria alimenticia se mantenga durante la lactación. Mediante tinción con hematoxilina y eosina se evaluó el espesor y longitud de distintas regiones hipocampales sin ver efectos significativos por el tratamiento en las mediciones comportamentales ni histológicas; sin embargo, en la región CA1 hay una tendencia a aumentar el espesor de esta región en ratas tratadas.

**Palabras clave:** Subnutrición; memoria; ratas; programación fetal.

**Key words:** Undernutrition; memory; rats; fetal programming.

**Palavras-chave:** Subnutrição; memória; ratos; programação fetal.

**Correspondencia:** Patricia Genovese ([patriciagenovese@gmail.com](mailto:patriciagenovese@gmail.com)) y Paul Ruiz Santos ([paulruizsantos@gmail.com](mailto:paulruizsantos@gmail.com)). Departamento de Biociencias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Ruta 8, Km 18, CP 13000, Montevideo, Uruguay.



Publicado bajo licencia [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

## ABSTRACT

Protein undernutrition during the perinatal period produces morphological alterations in the hippocampus and cognitive decline in adult rats. In the present study, we assessed the time spent and the number of errors made in a maze by 365-day-old male Wistar rats born to dams fed ad libitum or subjected to a 50% food restriction during pregnancy. At birth, all dams were fed ad libitum; however, the offspring of malnourished dams were assigned to larger litters in order to maintain the nutritional deprivation during lactation. Hematoxylin and Eosin staining was used to evaluate the thickness and length of different hippocampal regions. No significant treatment effects were observed in either behavioral or histological measures. However, in the CA1 region, a trend toward increased thickness was noted in treated rats.

## RESUMO

A subnutrição proteica no período perinatal produz alterações na morfologia do hipocampo e prejuízos nas habilidades cognitivas em ratos adultos. No presente estudo, foram estimados o tempo e os erros cometidos em um labirinto por ratos Wistar machos, com 365 dias de idade, nascidos de mães alimentadas com dieta ad libitum ou submetidas a subnutrição por meio de uma restrição de 50% do alimento ad libitum durante a gestação. Após o nascimento, todas as mães passaram a receber alimentação ad libitum; contudo, os filhotes provenientes de mães submetidas à subnutrição gestacional foram amamentados em ninhadas maiores, de modo a manter a condição de penúria nutricional durante a lactação. Por meio de coloração com hematoxilina e eosina, foram avaliados a espessura e o comprimento de diferentes regiões hipocampais, não sendo observados efeitos significativos do tratamento nas medidas comportamentais ou histológicas. Entretanto, na região CA1 verificou-se uma tendência ao aumento da espessura nessa região em ratos tratados.

El estatus nutricional de las hembras de diferentes especies incluyendo los humanos y las ratas durante la preñez tiene gran importancia para el crecimiento postnatal y el desarrollo de sus crías, y determina efectos permanentes en ellas (revisión: Desai y Hales., 1997). El concepto programación fetal abarca, entre otros, los efectos de la malnutrición fetal o neonatal sobre el desarrollo pre y postnatal y hasta la vida adulta (Engelbregt et al., 2000; Barker et al., 2004). Una de las adaptaciones del feto del mamífero a la falta de nutrientes u oxígeno es la disminución de la tasa mitótica, especialmente en aquellos tejidos que están en rápida división celular en el momento de la carencia del nutriente (Cooper et al., 2002). En este sentido, el status nutricional de la madre puede generar alteraciones estables de la expresión genética del genoma fetal, lo que sería un mecanismo molecular por el cual la nutrición materna influiría en la programación fetal (Wu et al., 2006). Se sabe que la dieta hipoproteica materna durante la gestación causa alteraciones en el desarrollo del hipocampo, incluyendo la cronología de la formación del giro dentado y la morfología de las células hipocampales (Morgane et al., 2002; Alamy y Bengelloun, 2012).

El hipocampo se encuentra situado en el sistema límbico, relacionado tanto con la memoria como con los procesos cognitivos que tienen que ver con la producción y regulación de estados emocionales, además de intervenir en la navegación espacial. Se subdivide en tres regiones, las cortezas de Ammón 1, 2, 3 (CA1, CA2 Y CA3). Todas las áreas del hipocampo comparten como característica una organización cortical simplificada en tres capas (Lammers, 1972; Stephan, 1975).

Existen diversas clasificaciones de memoria según se atienda a su contenido declarativo o procedimental, su duración (a corto plazo o a largo plazo) o a su naturaleza, es decir aquellas que se mantienen a lo largo del tiempo frente a las que son transitorias (memoria de trabajo) (Deiana et al., 2011). Dentro de la memoria a largo plazo se distingue entre memoria explícita y la memoria implícita (Dew y Cabeza., 2011; Mulligan., 2012).

La memoria explícita o declarativa es el almacenamiento cerebral de hechos (memoria semántica) y sucesos (Tulving., 2002). Se expresa conscientemente, es flexible y cambiante. La memoria episódica resulta del aprendizaje relacional, que consiste en analizar, comparar y contrastar diferentes tipos de información (Crystal., 2010; Ferbinteanu et al., 2006; Morris., 2001). Un ejemplo es el aprendizaje que permite orientarnos en el espacio circundante, está presente en humanos y también en otros animales, lo que nos permite estudiar el aprendizaje espacial en modelos experimentales (Deiana et al., 2011). Por lo tanto, la memoria espacial se clasifica como declarativa a largo plazo y es el modo en el que se percibe el espacio tridimensional a través del cual nos movemos, teniendo en cuenta sus volúmenes y referencias. Dentro del

hipocampo se encuentran células llamadas “de lugar” que trabajan como un verdadero GPS cerebral (Olivares y col., 2015). La orientación y exploración en espacios nuevos o desconocidos son una de las facultades cognitivas más usadas y que postula la idea de que la representación de nuestro entorno se genera en el hipocampo como un “mapa cognitivo” (Olivares et al., 2015).

Por otra parte, es bien sabido que la desnutrición precoz genera un déficit sobre la capacidad de aprendizaje en la rata adulta (Soares et al., 2017). Sin embargo, recientemente se encontró que el enriquecimiento ambiental modifica los efectos de la desnutrición prenatal y postnatal a nivel de la expresión de receptores para BDNF en el hipocampo y sobre la memoria espacial en las ratas macho adultas jóvenes (Faría et al., 2024). Nuestro equipo ya había encontrado de forma preliminar que las ratas macho adultas jóvenes subnutridas durante la toda la gestación y la lactación presentaban un desempeño peor en el Water Morris Maze (WMM) (Ruiz et al., 2013). Por lo que el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la subnutrición durante la gestación y la lactación sobre la memoria espacial y la morfología del hipocampo en ratas machos adultas de 365 días de vida, es decir a largo plazo en la vida.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño experimental

El experimento abarcó la restricción alimentaria de las crías durante la gestación (limitando la alimentación materna) y la lactación (aumentando el número de crías lactantes por camada). Se llevó a cabo en el laboratorio de experimentación animal de la Facultad de Veterinaria (UdelaR). Los animales fueron alojados con 12 hs de luz diarias y a 22°C. Se utilizó siempre el mismo tipo de ración balanceada (23% proteína; 8% fibra; 2,5% calcio: 1,25 % fósforo).

Se utilizaron 16 ratas Wistar primíparas, servidas por el mismo macho, con pesos corporales de  $232,5 \pm 10,5$  gramos, y tres meses de vida al inicio del experimento.

Se diagnosticó gestación por frotis vaginal diario (Marcondes et al., 2002) y se determinó como día 1 al día de la aparición de espermatozoides en el frotis.

Las hembras positivas fueron alojadas en jaulas individuales y se organizaron los siguientes grupos experimentales:

Grupo control (grupo C, n= 8): alimentados *ad libitum* con agua y ración. Grupo restringido o tratado (grupo T, n=8): alimentado durante toda la gestación y hasta el parto con 50% del consumo *ad libitum* diario materno (obtenidos en un experimento preliminar en el que se determinó el consumo *ad libitum* día a día a lo largo de toda la gestación en 6 hembras gestantes de la misma cepa).

En ambos grupos se tomó diariamente el peso corporal materno y se estableció como criterio de punto final experimental de las hembras tratadas la pérdida de más del 10% del peso corporal al inicio del experimento (ningún animal llegó a esa pérdida de peso final).

Desde el día del parto ambos grupos de madres pasaron a tener alimento y agua *ad libitum*. Las camadas del grupo C fueron constituidas con 8 crías (retirando o agregando crías marcadas de otras madres si fuera necesario) hasta el destete, mientras que en el grupo T tuvieron 14 crías por camada durante la lactación. Los cachorros fueron identificados de manera individual y permanente por perforaciones en el pabellón auricular, se seleccionó un macho al azar por camada/madre, fueron destetados a los 25 días de vida post natal y alojados en grupos de a 5 animales. Entre el día del destete y los 365 días de vida fueron alimentados *ad libitum*.

### **Laberinto en múltiples T para medir memoria espacial.**

A cada una de las ratas macho, se las hizo pasar por un laberinto de múltiple T durante 6 días consecutivos, con 16 horas de ayuno previo, registrando sus performances en video, para luego determinar por dos observadores a ciegas las siguientes variables:

Tiempo total: tiempo en segundos que demora cada individuo desde que se lo coloca adentro del laberinto hasta que llegan a la meta (lugar del laberinto al cual se llega a través de un camino sinuoso en dónde está la ración que utilizamos como recompensa). Si a los 300 segundos dentro del circuito los animales no llegaron a la meta, damos por finalizado el intento llevándolo al destino final (ver fig. 1).

Tiempo distante (Td): tiempo en segundos en que cada rata se encuentra dentro de la parte del laberinto que forma la "T" más distante al punto de partida (ver fig. 1).

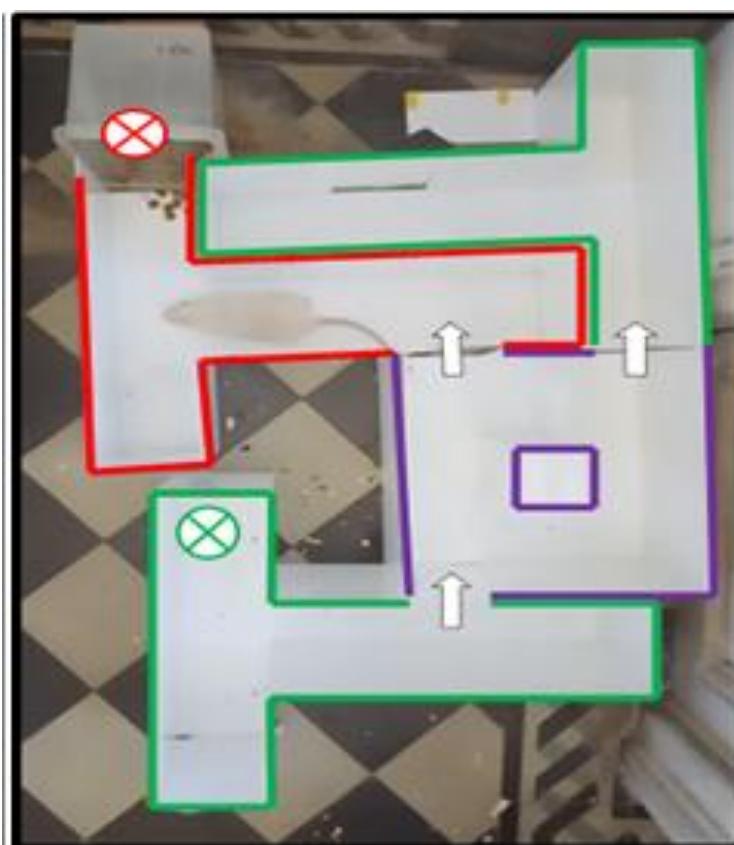
Tiempo plaza (Tp): tiempo en segundos en que cada rata se encuentra dentro de la parte del laberinto llamado "plaza" que se localiza más o menos equidistante entre el punto de partida y la meta (ver fig. 1).

Tiempo objetivo (To): tiempo en segundos en que cada rata se encuentra dentro de la parte del laberinto que conforma la "T" donde está el destino (ver fig. 1).

Errores: se entiende como "error" a la opción de camino que tome la rata en el trayecto hacia la meta que la desvíe del objetivo (ver fig. 1).

**Figura 1:**

Laberinto en múltiple T utilizado. La X verde indica zona de ingreso del animal y la X roja el destino. Las T marcadas de verde indican los brazos distantes, mientras que la marcada de rojo indica la T objetivo. La zona indicada de plaza está marcada de violeta.



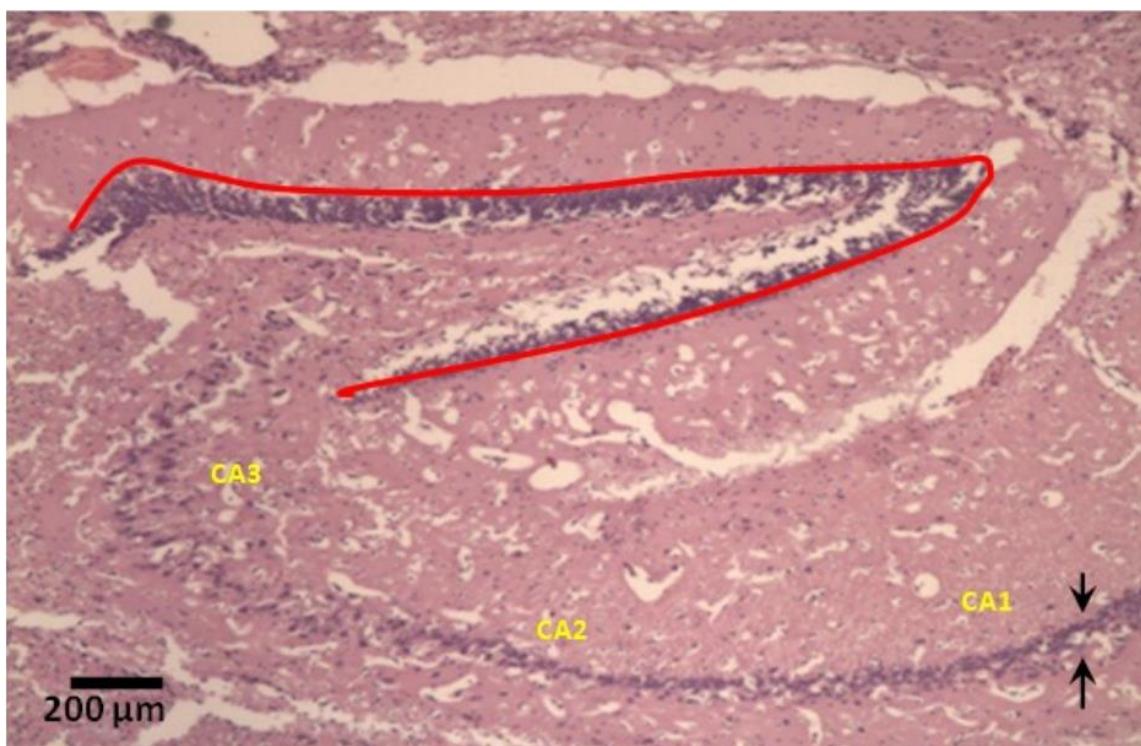
### **Muestreo, procesamiento histológico y morfometría.**

Finalizado el pasaje de todos los animales por el laberinto los animales fueron pesados y anestesiados con Ketamina y Xilacina intraperitoneal (70 mg/kg de Ket. + 10ml/kg de Xil.) previo a la decapitación. Sus encéfalos fueron pesados y fijados por inmersión con solución buffer de paraformaldehído al 4%. Posteriormente, se disecó el cerebro de los animales, se pesó y se calculó el índice cerebro somático (ICS). Los hemisferios cerebrales izquierdos fueron procesados con pasajes en concentraciones crecientes de etanol, impregnados en cloroformo y finalmente parafina líquida para confeccionar bloques que luego se cortaron en secciones de 5 micrómetros de espesor, en sentido longitudinal, parasagital.

Dos observadores a ciegas sobre un juego de cortes histológicos (un corte por cada animal) tratados con Hematoxilina y Eosina tomaron fotografías con un sistema de análisis de imágenes: microscopio óptico Olympus BX50 (Olympus, Tokio, Japon), video cámara (SSC-C158P; Sony, Tokio, Japón) y computadora personal con el programa Image Pro Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MA, USA) a un aumento final de 400 x en el monitor de la PC. Se midió el espesor de cada capa de la corteza del hipocampo: espesor de la capa granular (o principal) del asta de Ammón: regiones ECA1, ECA2, ECA3; espesor de la capa granular o principal del Giro Dentado en su rama dorsal (EGDD), ventral (EGDV) y en el vértice del mismo (EGDVE), así como también la longitud de las ramas ventrales y dorsales del GD que luego se sumaron, obteniendo la longitud total del giro dentado (LTG) para hacer los cálculos estadísticos (ver fig. 2).

**Figura 2:**

Fotografía de hipocampo de ratas de 365 días de vida. Coloreado con hematoxilina y eosina. La línea roja representa la longitud del giro dentado (LTG). Entre las flechas negras se observa el espesor del hipocampo a nivel de la región CA1. Con letras amarillas se marcan las regiones del hipocampo. Imagen obtenida a 40x.



### Análisis estadístico

Todas las variables cuantitativas fueron expresadas como medias  $\pm$  ds. Se determinó normalidad por test de Shapiro-Wilk. Se estudió los efectos de grupo e individuo dentro de grupo. La variación entre ratas dentro de un mismo tratamiento fue considerada como parte del error experimental cuando se analizaron las diferencias entre tratamientos. Tanto las diferencias entre grupos en las variables histológicas cuantitativas, así como el peso encefálico y las variables comportamentales fueron comparadas por entre grupos a través de ANOVA de una vía, y la comparación entre sesiones de comportamiento a través de ANOVA de medidas repetidas. Los valores fueron considerados significativamente diferentes con  $p \leq 0.05$  y se estudiaron las diferencias *post hoc* entre grupos con test de Tukey.

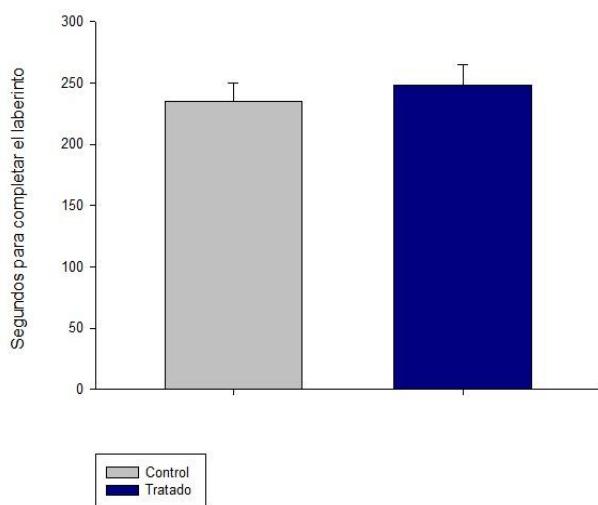
### Apartado bioético

Todas las maniobras que se realizaron sobre los animales para este experimento fueron informadas previamente y aprobado por el comité de ética en el uso de animales (CEUA) de la Facultad de Veterinaria (UdelaR) (protocolo: 573/17).

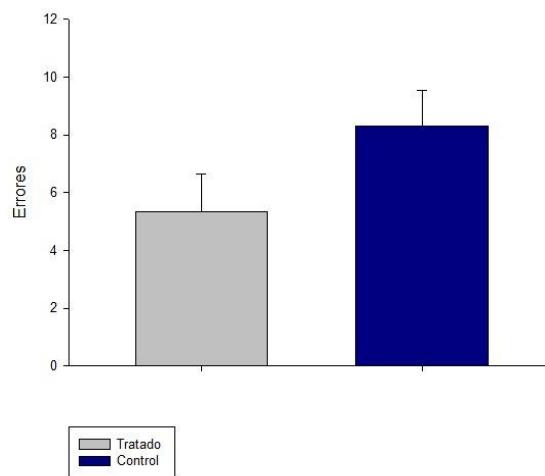
## RESULTADOS

### Resultados del laberinto en múltiple T

No encontramos diferencias en las variables comportamentales (número de errores, tiempo por zonas y tiempo total) dentro del laberinto y a lo largo de los sucesivos días entre el grupo control y el grupo tratado en ninguna de las variables estudiadas en el laberinto (Ver gráficos 1 y 2).



**Gráfico 1.** Medias y desvíos de tiempo que utilizaron los animales de los grupos C y T en realizar el laberinto de 3 T.



**Gráfico 2.** Medias y desvíos de los errores que cometieron los animales pertenecientes a los grupos C y T al realizar el

### **Resultados macroscópicos**

Encontramos diferencias en los pesos: corporal, encefálico y cerebral, aunque no se vieron diferencias en el índice encéfalo/somático (Ver tabla 1).

**Tabla 1.**

Medias y desvíos del peso corporal, encefálico, cerebral e índice encéfalo/somático a los 365 días de vida en los grupos C y T.

\*:  $P \leq 0.05$ ; \*\*:  $0.001 \leq P < 0.05$  comparados con el grupo control.

Grupos	Peso corporal (g)	Peso encefálico (g)	Peso cerebral (g)	Índice encéfalo/somático
Controles	$579,9 \pm 34,1^*$	$2,3 \pm 0,1^{**}$	$1,61 \pm 0,06^*$	$0,004 \pm 0,0002$
Tratados	$532,8 \pm 25,5$	$2,1 \pm 0,08$	$1,5 \pm 0,09$	$0,004 \pm 0,0001$

### **Resultados histológicos**

De las variables estudiadas encontramos diferencias únicamente en el espesor de la región del hipocampo CA1 donde el grupo tratado presento mayor espesor (ver tabla 2).

**Tabla 2.**

Variables Histológicas del hipocampo. Espesores en micrómetros de la capa granular del asta de Ammón: ECA1, ECA2, ECA3; espesor de la capa granular Giro Dentado en su rama dorsal (EGDD), ventral (EGDV) y vértece (EGDVE). Longitud total del giro dentado (LTGD).

Variables	Grupo Control (C)	Grupo Tratado (T)
ECA1	$181,7 \pm 15,0$	$239,0 \pm 22,5^*$
ECA2	$79,8 \pm 5,2$	$86,7 \pm 3,8$
ECA3	$304,8 \pm 13,6$	$326,0 \pm 25,9$
EGDD	$104,9 \pm 12,0$	$120,3 \pm 12,3$
EGDV	$76,4 \pm 8,4$	$91,3 \pm 10,1$
EGDVE	$128,5 \pm 24,3$	$143,4 \pm 24,1$
LTGD	$4152,4 \pm 103,3$	$4253,3 \pm 142,9$

\*:  $P \leq 0.05$  comparados con el grupo control.

## DISCUSIÓN

### Variables de comportamiento

En nuestro trabajo, el estudio comportamental en ratas macho de 365 días de vida que fueron sometidas a subnutrición en el periodo perinatal (gestación y lactación) T y sus ratas controles C, no mostraron respuesta diferencial. Estos resultados abarcan tanto el tiempo de ejecución del laberinto como el número de errores que cometieron en el transcurso del mismo. Estos resultados que difieren con los de (Sanchez Turet y Gonzalez Sastre, 1975), quienes bajo condiciones de trabajo muy similares a las nuestras (tipo de restricción, periodo de restricción) encuentran que en ratas Sprague Dawley a las 15 semanas de edad (105 días de vida) exhiben diferencias muy significativas entre los grupos T y C de su modelo. Tal vez la diferencia entre ambos experimentos sea la edad a la que se midieron las variables comportamentales. Esta diferencia nos hace pensar que el crecimiento compensatorio que ocurre en las etapas desde neonato hasta adulto se vió afectada y es posible que sea continua a largo plazo. En este sentido, el crecimiento pos natal después de la restricción del crecimiento intra uterino es fundamental para la consolidación de la memoria en modelos animales (Duran et al., 2017; Caldwell et al., 2017). Es importante tener en cuenta que en nuestro diseño experimental subnutrimos disminuyendo proporcionalmente todos los nutrientes de igual forma, sin embargo, la mayoría de los modelos experimentales de subnutrición perinatal se basan en la restricción de proteínas en las dietas, siendo esta el componente principal neurotrófico. Lo esperable es que nuestros resultados no sean tan drásticos en comparación con otros estudios. En este sentido, la subnutriciones proteicas en torno al 8% en edad perinatal induce déficit en la navegación eficiente del lugar en ratas adultas (Cordoba et al., 1994). Este efecto también es mencionado por varios autores en diferentes regiones del hipocampo, por un lado, estudiaron los efectos de la subnutrición proteica prenatal y estudiaron su impacto sobre las células piramidales CA1 en ratas de edades 15, 30, 90 y 220 días de vida (Cintra et al., 1997). Por otro lado, estudiaron el efecto de la subnutrición proteica prenatal y la rehabilitación nutricional pos natal sobre las células piramidales del hipocampo en la región CA3 en ratas de 15, 30, 90 y 220 días de vida (Díaz-Cintra et al., 1994). Y por último, estudiaron los efectos de la privación prenatal de proteínas en el desarrollo posnatal de células granulares en el giro dentado del hipocampo, también en las mismas cuatro edades 15, 30, 90 y 220 días (Díaz-Cintra et al., 1994). Lo interesante es que los tres trabajos mencionados anteriormente concluyen en que existe una distribución bimodal de cambios en la plasticidad neuronal con un período aparente de “rehabilitación” en el día 90, ya que se observa menos escasez en los componentes citoarquitectónicos de las distintas regiones en un intento de recuperación o de adaptación cerebral a la desnutrición pero queda sin efecto más adelante ya que se generó un déficit metabólico celular para seguir el ritmo de desarrollo neural normal a los 220 días. Esto podría explicar por qué nosotros no encontramos diferencias en nuestras variables con nuestras condiciones experimentales. Entendemos que es necesario seguir estudiando más variables de este experimento para entender el efecto cruzado entre edad y el tipo de subnutrición temprana, a largo plazo en la memoria en este modelo animal.

### Peso corporal y encefálico

En cuanto al resultado del peso corporal, encontramos que la subnutrición durante la gestación y la lactación afectan el peso corporal (González-Cossío et al., 1998). Incluso en un modelo similar en ratas ya se verificó que este tratamiento afecta el peso corporal y el testicular (Genovese et al., 2010, 2019). Encontramos que el tratamiento afecta el peso cerebral de igual forma que el peso corporal, pero no afecta el índice peso encefálico / peso somático es la estrategia de adaptación a la subnutrición intrauterina. Es decir que animales más chicos y más livianos tienen cerebros mas livianos pero en proporción con el tamaño corporal. Por otra parte, el efecto provoca retardo en el crecimiento, parece estar asociada a una redistribución del gasto cardíaco y a la priorización de los órganos centrales (cerebro, miocardio y glándulas suprarrenales) en detrimento de órganos periféricos, es el llamado efecto de conservación del cerebro (Pérez-Clariget et al., 2015). En nuestro caso, no hay dudas de que los animales gestaron en un ambiente uterino negativo en cuanto a los nutrientes disponibles para el desarrollo fetal. Esto queda claro al analizar el comportamiento de las madres durante la gestación. En nuestro trabajo, las madres del grupo T perdieron peso y las del grupo C ganaron peso al final de la gestación. Por lo tanto, los fetos del grupo T tuvieron que adaptarse a la falta de nutrientes y seguramente priorizaron las necesidades de los órganos centrales que se mantuvieron más o menos estables con relación a su peso corporal por lo que podemos asumir que existió efecto de conservación del cerebro que se pudo observar aún muchos meses después.

## Aspectos histológicos

Nuestro trabajo utilizó la técnica histológica como herramienta para evaluar distintas regiones del hipocampo, con el fin de correlacionarlos con los efectos comportamentales. En el estudio histológico encontramos una tendencia en el espesor de la región CA1 en donde detectamos que era mayor en animales del grupo T en comparación con sus controles. En cuanto a las variables histológicas medidas, nuestros resultados pueden deberse al las variables seleccionadas. Hemos encontrado trabajos donde con una restricción alimentaria muy similar a la nuestra encontraron a nivel del hipocampo empobrecimiento de los recursos neuronales con menor densidad de espinas dendríticas, arborizaciones dendríticas menos pobladas, menor densidad de neuronas en algunas regiones, somas neuronales más pequeños, disminución del diámetro de las fibras mielinizadas y amielinizadas, menor proliferación celular, disminución en la plasticidad neuronal dependiente de BDNF (factor neurotrófico derivado del cerebro) por insuficiencias de los actores que participan en su óptimo desempeño y sinapsis retardadas (Barra et al., 2019; Moody et al., 2017). Sin embargo, a pesar del tratamiento aplicado, los impactos en su gran mayoría no se vieron reflejados en la performance de la memoria espacial o el aprendizaje en esas ratas.

Es complejo interpretar el resultado obtenido en la región del hipocampo CA1. Algunos autores encontraron una tendencia similar al aplicar distintos factores estresantes no nutricionales en la etapa final de la gestación. En un trabajo que utilizó factores estresantes que implicaron exceso de luz y aislamiento social durante el último tercio de gestación, se encontró que los animales tienen alterada la morfología dendrítica y la conectividad sináptica en la corteza prefrontal (Mychasiuk et al., 2012) con una pérdida en el número de neuronas y el número estimado de sinapsis en hipocampo a pesar de exhibir una mayor densidad en el espesor de la región CA1. Por otro lado, en un diseño de estrés materno por restricción de movimiento durante el último tercio de gestación encontraron que puede provocar disfunciones emocionales y cognitivas en la descendencia (Bock et al., 2011). Más específicamente en el antedicho experimento se sometieron a variados estresores, y los resultados arrojaron que la región CA1 del hipocampo en la descendencia estresada (grupo tratado) aumentó la densidad de las neuronas piramidales solo en los machos. Los resultados de estos autores sugieren que los efectos estresantes pueden afectar el ciclo de maduración y poda dendrítica normal en CA1 durante el desarrollo, lo que podría resultar en un exceso de sinapsis menos eficientes, lo que es posible que explique el aumento en el espesor de CA1. Sin embargo, nuestras variables no se enfocaron en medir este ciclo. En este punto entendemos que es necesario continuar los estudios sobre estas muestras con variables que ayuden a entender el origen del aumento del espesor de CA1.

Podemos concluir que en nuestras condiciones experimentales los efectos de la subnutrición durante la gestación y la lactación en las ratas macho, no altera la memoria espacial cuando los animales son adultos a los 365 días de vida. Al igual que diversos autores comprobamos que la subnutrición durante la gestación y la lactación determina menor peso corporal, pero no afecta el índice encéfalo/somático. En nuestras condiciones no encontramos efecto del tratamiento sobre las variables morfométricas estudiadas salvo en el espesor de la región CA1 de los animales del grupo tratado que requiere de futuros estudios para explicar el resultado obtenido.

## Taxonomía de contribuciones autoría CRediT (Contributor Roles Taxonomy)

**Patricia Genovese:** diseño de experimento, análisis moleculares y escritura de artículo.

**Eva Genovese:** análisis de pruebas de comportamiento y análisis moleculares.

**Emiliano Herrera:** análisis moleculares y escritura de artículo.

**Martin Duque:** análisis moleculares y escritura de artículo.

**Alejandro Bielli:** diseño de experimento, corrección de artículo.

**Paul Ruiz:** análisis de pruebas de comportamiento y corrección de artículo.

## REFERENCIAS

- Alamy M, Bengelloun W. (2012) Malnutrition and brain development: an analysis of the effects of inadequate diet during different stages of life in rat. *Neurosci Biobehav Rev*, 36 (2012), pp. 1463-1480 <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.03.009>
- Barker, D. J. (2004). Developmental origins of adult health and disease. *Journal of epidemiology and community health*, 58(2), 114–115. <https://doi.org/10.1136/jech.58.2.114>
- Barra, R., Morgan, C., Sáez-Briones, P., Reyes-Parada, M., Burgos, H., Morales, B., & Hernández, A. (2019). Facts and hypotheses about the programming of neuroplastic deficits by prenatal malnutrition. *Nutrition reviews*, 77(2), 65–80. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy047>
- Bock, J., Murmu, M. S., Biala, Y., Weinstock, M., & Braun, K. (2011). Prenatal stress and neonatal handling induce sex-specific changes in dendritic complexity and dendritic spine density in hippocampal subregions of prepubertal rats. *Neuroscience*, 193, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.07.048>
- Caldwell, M., Balada, R., Ortega, J., Duran, C., Giraben, M., Alcantara, S. (2017). Learning and memory disabilities in IUGR babies: Functional and molecular analysis in a rat model. *Brain Behav.* 7;7(3). DOI: <https://doi.org/10.1002/brb3.631>
- Cintra, L., Aguilar, A., Granados, L., Galván, A., Kemper, T., DeBassio, W., Galler, J., Morgane, P., Durán, P., & Díaz-Cintra, S. (1997). Effects of prenatal protein malnutrition on hippocampal CA1 pyramidal cells in rats of four age groups. *Hippocampus*, 7(2), 192–203. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1997\)7:2<192::AID-HIPO6>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1997)7:2<192::AID-HIPO6>3.0.CO;2-P)
- Cooper, C.R., Bhatia, J.K., Muenchen, H.J., Mc Lean, L., Hayasaka, S., Taylor, J., Poncza, P.J., Pienta, K.J. (2002). The regulation of prostate cancer cell adhesion to human bone marrow endothelial cell monolayers by androgen dihydrotestosterone and cytokines. *Clinical & Experimental metastasis*, 19 (1), 25-33. <https://doi.org/10.1023/a:1013849123736>
- 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 : organo de la Asociacion Latinoamericana de Ciencias Fisiologicas y [de] la Asociacion Latinoamericana de Farmacologia*, 44(3), 70–76.
- Cristal JD (2010). Memoria episódica en animales. *Investigación del comportamiento del cerebro* , 215 (2), 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.bbri.2010.03.005>
- Deiana, S., Platt, B. y Riedel, G. (2011). El sistema colinérgico y el aprendizaje espacial. *Investigación del comportamiento del cerebro*, 221 (2), 389–411. <https://doi.org/10.1016/j.bbri.2010.11.036>
- Desai, M., Hales, C.N. (1997). Role of fetal and infant growth in programming metabolism in later life. *Biological Reviews Cambridge Philosophical Society*, 72 (2), 329-348. <https://doi.org/10.1017/s0006323196005026>
- Dew, I., & Cabeza, R. (2011). The porous boundaries between explicit and implicit memory: behavioral and neural evidence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1224, 174–190. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05946.x>
- Díaz-Cintra, S., García-Ruiz, M., Corkidi, G., & Cintra, L. (1994). Effects of prenatal malnutrition and postnatal nutritional rehabilitation on CA3 hippocampal pyramidal cells in rats of four ages. *Brain research*, 662(1-2), 117–126. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)90803-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)90803-6)
- Durán Fernandez-Feijoo, C., Carrasco Carrasco, C., Villalmazo Francisco, N., Cebriá Romero, J., Fernández Lorenzo, J. R., Jiménez-Chillaron, J. C., & Camprubí, M. (2017). Influence of catch up growth on spatial learning and memory in a mouse model of intrauterine growth restriction. *PloS one*, 12(5), e0177468. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177468>
- Engelbregt, M.J., Houdijk, Y.O., Popp-Snijders, C., Delemarre-Van de Waal, H.A. (2000). Los efectos del retraso del crecimiento intrauterino y la desnutrición postnatal sobre el inicio de la pubertad en ratas machos y hembras. *Pediatric Research*, 48 (6), 803-807. <https://doi.org/10.17139/raab.2016.0018.01.04>
- Farias, O., da Silva, J., Costa, D., Isidro, M., de Melo, E., Barbosa R. (2024). Environmental enrichment changes the effects of prenatal and postnatal undernutrition on memory, anxiety traits, Bdnf and TrkB expression in the hippocampus of male adult rats. *Behavioral Brain Research*. Vol. 460- march 5/2024. <https://doi.org/10.1016/j.bbri.2023.114817>
- Ferbianteau, J., Kennedy, PJ y Shapiro, ML (2006). Memoria episódica: del cerebro a la mente. *Hipocampo*, 16 (9), 691–703. <https://doi.org/10.1002/hipo.20204>
- Genovese, P., Núñez, M. E., Pombo, C., & Bielli, A. (2010). Undernutrition during foetal and post-natal life affects testicular structure and reduces the number of Sertoli cells in the adult rat. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, 45(2), 233–236. <https://doi.org/10.1111/i.1439-0531.2008.01244.x>
- Genovese, P., Herrera, E., Riaño, V., Bielli, A. (2019). Subnutrition Effects During Pregnancy and Lactation on Mitosis, Apoptosis and Androgen Receptor Expression in the Rat Testis. *Reproduction in Domestic Animals*, 54 (3), 506-513. <https://doi.org/10.1111/rda.13385>
- González-Cossío, T., Sanín, L. H., Hernández-Avila, M., Rivera, J., & Hu, H. (1998). Longitud y peso al nacer: el papel de la nutrición materna. *Salud pública de México*, 40, 119-126.
- Lammers, HJ (1972). Las conexiones neuronales del complejo amigdaloide en los mamíferos. *La neurobiología de la amígdala*, 123-144.
- Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. (2002). Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz J Biol* 62:609-14.
- Moody, L., Chen, H., & Pan, Y. X. (2017). Early-Life Nutritional Programming of Cognition-The Fundamental Role of Epigenetic Mechanisms in Mediating the Relation between Early-Life Environment and Learning and Memory Process. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 8(2), 337–350. <https://doi.org/10.3945/an.116.014209>
- Morgane PJ, Mokler D, Galler JR. (2002). Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation *Neurosci Biobehav Rev*, 26 (2002), pp. 471-483. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(02\)00012-X](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(02)00012-X)
- Morris, R. G. (2001). Episodic-like memory in animals: psychological criteria, neural mechanisms and the value of episodic-like tasks to investigate animal models of neurodegenerative disease. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 356(1413), 1453–1465. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.0945>
- Mulligan, N. W. (2012). Differentiating between conceptual implicit and explicit memory: a crossed double dissociation between category-exemplar production and category-cued recall. *Psychological science*, 23(4), 404–406. <https://doi.org/10.1177/0956797611433335>
- Mychasiuk, R., Gibb, R., & Kolb, B. (2012). Prenatal stress alters dendritic morphology and synaptic connectivity in the prefrontal cortex and hippocampus of developing offspring. *Synapse (New York, N.Y.)*, 66(4), 308–314. <https://doi.org/10.1002/syn.21512>
- Olivares, J; Júarez, E; García, F. (2015). El hipocampo: neurogénesis y aprendizaje. *Revista Médica Universidad Veracruzana*, 15(1), 20-28.
- Pérez-Clariget, R., Bielli, A. (2015). Efectos de la nutrición intrauterina sobre la programación fetal de órganos reproductivos y el comportamiento reproductivo futuro en ovinos. *Spermova*, 5(2), 206-212.

- Rolls, E. T. (1996). A theory of hippocampal function in memory. *Hippocampus*, 6(6), 601–620.  
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1996\)6:6<601::AID-HIPO5>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1996)6:6<601::AID-HIPO5>3.0.CO;2-J)
- Ruiz, P., Genovese, P., Riaño, V., Herrera, E., Ferrer, R., Bielli, A. (2013). ¿La memoria espacial se ve afectada en ratas nacidas de madres subnutridas? *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, 5 (Suplemento), 348-349.
- Sánchez-Turet, M., González-Sastre, F., & Sabater Tobella, J. (1976). Efectos de la desnutrición precoz sobre la capacidad de aprendizaje en la rata. *Anuario de Psicología*, vol. 14, p. 105-115.
- Soares R., Horiquini E., Almeida S., Lachat J. (2017). Environmental enrichment protects spatial learning and hippocampal neurons from the long-lasting effects of protein malnutrition early in life. *Behav Brain Res*. Sep 29:335:55-62. doi: 10.1016/j.bbr.2017.08.012
- Stephan, H. (Ed.). (1975). *Allocortex*. Springer Berlin Heidelberg.
- Tulving, E. (2002). Episodic memory: from mind to brain. *Annual review of psychology*, 53, 1–25.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.psych.53.100901.135114>
- Wu, G.M., Bazer, F.W., Wallace, J.M., Spencer, T.E. (2006). Board invited review: intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences. *Journal of Animal Science*, 84(9), 2316-2337.  
<https://doi.org/10.2527/jas.2006-156>