

EFFECTOS DE DOS DIETAS ENRIQUECIDAS CON ACEITES (SOJA Y OLIVA) SOBRE PARÁMETROS MORFOMÉTRICOS Y CONDUCTUALES DE RATAS HEMBRAS SUBNUTRIDAS TEMPRANAMENTE

Celestino González, Serafina Fernández y Ángeles Menéndez-Patterson
Universidad de Oviedo

Este estudio analiza el papel del aceite de soja y oliva en la rehabilitación de ratas hembras subnutridas «in utero» y durante la lactancia. A los 20 días de edad y durante un período de 70 días, los animales subnutridos fueron alimentados con 3 dietas diferentes: estándar, estándar enriquecida con aceite de soja (7%) y estándar enriquecida con aceite de oliva (7%). Se estudió también un grupo control. Al final del período experimental los animales realizaron un test de campo abierto. Se les registró algunos parámetros morfométricos (peso y talla corporal, peso y longitud de un paquete muscular, peso de: cerebro, hipófisis, glándulas adrenales, ovarios y grasa de sustentación de los ovarios) y bioquímicos (glucosa, proteínas, triglicéridos y colesterol). La subnutrición produce un peso y talla corporal menor que el de los controles. Las dietas experimentales no fueron efectivas en la recuperación del crecimiento. En los animales que se rehabilitaron comiendo las dietas enriquecidas con aceites, la grasa ovárica se encuentra significativamente incrementada con respecto a los otros dos grupos. Todos los parámetros bioquímicos se encuentran normalizados a excepción de los triglicéridos, los cuales están aumentados en los animales rehabilitados con las dietas enriquecidas en aceites. Las hembras que ingieren las dietas enriquecidas en aceites muestran una deambulación externa superior a los otros dos grupos, mientras que el tiempo utilizado en la postura de atención es inferior.

Effects of two enriched oil diets (soybean and olive) on some morphometric and behavioral parameters in early undernourished female rats. The present study evaluates the role of soybean and olive oil in the rehabilitation of female rats undernourished «in uterus» and during lactation. Beginning at 20 days of age, for a period of 70 days, the malnourished animals were fed three different diets: standard diet, standard diet enriched with soybean oil (7%), and standard diet enriched with olive oil (7%). A control group eating standard diet was also studied. At the end of the experimental period the animals were tested on an open-field test. Some morphometric parameters (body weight and length, weight and length of some muscles, weight of different organs and glands, such as brain, pituitary, adrenals, ovaries and peripheral fat) and biochemical parameters (glucose, proteins, triglycerides and total cholesterol) were also measured. Undernutrition produced a decreased body weight and experimental diets were not effective in growth recovery. As compared with the other groups, animals eating oil enriched diets showed a significant increase in the peripheral ovarian fat. All biochemical parameters were recovered in the three experimental groups, while triglycerides were only increased in groups eating oil diets. Undernourished females eating oil-enriched diets displayed a bigger locomotion and a lower freezing than controls and undernourished animals eating the standard diet.

Correspondencia: Celestino González
Facultad de Medicina
Universidad de Oviedo
33006 Oviedo (Spain)
E-mail: ffgampag@arraris.es

En los últimos años una serie de investigaciones en humanos y animales han demostrado que la malnutrición temprana pue-

de producir retrasos importantes en el desarrollo anatómico, bioquímico, fisiológico y conductual (Fernández-Fernández, Alvarez-Ordás, Gutiérrez, Marín y Menéndez-Patterson, 1986; Menéndez-Patterson, Menéndez, Fernández, Fernández y Marín, 1985). Uno de los órganos cuyas funciones se ven más afectadas por la nutrición es el cerebro (Spring, 1986; Zeisel, 1986).

En ratas y ratones hay evidencias que indican que el peso de la grasa y el número de adipocitos se reducen durante períodos en los que se limita la ingesta (Mohan y Rao, 1983). Además, la malnutrición temprana afecta significativamente el metabolismo de las grasas como factor contribuyente del crecimiento (Chung-Ja y William, 1986).

El cerebro es el órgano que ocupa el segundo lugar en cuanto a la concentración de lípidos, inmediatamente después del tejido adiposo, una gran proporción de ellos comprende ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Los PUFA son componentes de los fosfolípidos de las membranas, donde juegan un importante papel en el mantenimiento de las características estructurales y funcionales de la bicapa lipídica (Brenner, 1984), siendo particularmente importantes para el desarrollo normal del cerebro. Los cambios en los lípidos cerebrales, como consecuencia de intervenciones dietarias, se han asociado con alteraciones en la conducta y el aprendizaje (Wainwright, 1992).

La malnutrición calórico-proteica, aplicada en la rata durante su desarrollo, está asociada con importantes deficiencias y alteraciones en el metabolismo de los ácidos grasos esenciales (EFAs) (Hill y Holman, 1980). En las ratas, los EFAs son imprescindibles para el crecimiento y el desarrollo de los descendientes (Essien y Marshall, 1983). En el cerebro, los EFAs son de especial interés porque se acumulan en él durante su desarrollo (McKenna y Champagnon, 1979). La privación parcial de EFAs durante el crecimiento reduce el peso del cere-

bro así como el contenido de ARN y proteínas pudiendo ser la causa del retraso en el aprendizaje y la memoria que se manifiesta en animales (Ruthrich, Hoffman y Mathie, 1984) y en niños (Koletzko, Abiodum, Laryea y Bremer, 1986).

Nuestros resultados previos nos han permitido concluir que la subnutrición en ratas durante la preñez y la lactancia conduce a alteraciones permanentes y profundas en el crecimiento, desarrollo y parámetros conductuales tanto en las madres como en sus descendientes (Fernández-Fernández et al., 1986; Menéndez-Patterson et al., 1985; González-Pardo, Gutiérrez-Sánchez, Menéndez-Patterson y Arias, 1994; González-Pardo, Cuesta, Menéndez-Patterson y Arias, 1997). Estas alteraciones no desaparecían cuando los animales fueron rehabilitados con la dieta estándar. Este estudio ha sido diseñado para valorar los efectos rehabilitadores de dos dietas enriquecidas con aceites (soja y oliva) sobre parámetros morfométricos, bioquímicos y conductuales. La selección de los diferentes tipos de aceites se hizo en base a: suministrar una dieta alta en energía y analizar los efectos de estas dietas diferentes [el aceite de soja tiene un contenido más alto de PUFAs (ácidos linoleico y linolénico) y el de oliva tiene un mayor contenido de ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico)].

Material y métodos

Animales: se utilizaron ratas Wistar, de ambos sexos, del Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad de Oviedo. Los animales fueron mantenidos bajo condiciones estándar de luz y oscuridad (12h luz-12h oscuridad), temperatura (23 ± 3 °C) y humedad absoluta ($65\pm 1\%$). Los animales tenían libre acceso al agua y fueron alimentados con la dieta estándar no purificada Panlab A04 (Panlab, Barcelona, España). La composición general de la dieta fue la siguiente:

agua, 12%; proteína, 18%; grasa, 3%; fibra, 4,3%; almidón, 35%; azúcar total, 3,5%; cenizas, 8%; fósforo, 0,65%; cloruro sódico, 0,6%; calcio, 1,28%; vitamina A, 15.000 IU/Kg; colecalciferol, 2.000 IU/Kg; vitamina E, 15mg; valor energético, 2.900 Cal/Kg.

Procedimiento: se utilizaron un total de 60 hembras vírgenes, de edad comprendida entre 67-77 días y de peso corporal 230-240g, las cuales fueron colocadas en grupos de tres con un macho sexualmente maduro por jaula. La copulación fue verificada diariamente (10.00h A.M.) por la presencia de espermatozoides en el frotis vaginal (día 0=día de la copulación). Las hembras gestantes fueron separadas al azar en dos grupos: control (12 animales) y subnutrido (42 animales). El número elevado de animales destinados a formar parte del grupo subnutrido es debido a la mortalidad alta que provoca este modelo experimental. La evolución de las madres (controles y subnutridas) y de sus camadas durante la gestación y la lactancia, de acuerdo con el modelo nutricional previamente desarrollado por nosotros, ha sido descrito detalladamente en trabajos anteriores (Fernández-Fernández et al., 1986; Menéndez-Patterson et al., 1985). Rutinariamente a cada camada se le asignaron 8 crías.

Al final del período de lactancia (20d), 10 camadas controles (C) y 10 subnutridas (S) tuvieron libre acceso a la dieta estándar. Otras 10 subnutridas (SS), fueron alimentadas con la dieta estándar suplementada con un 7% de aceite de soja y, por último, 10 camadas subnutridas (SO) fueron alimentadas con la dieta estándar suplementada con un 10% de aceite de oliva. Los animales continuaron con sus dietas respectivas hasta el final del experimento. Las dietas utilizadas, realizadas especialmente para este estudio, fueron preparadas por Panlab a partir de la dieta estándar añadiendo aceites comerciales de soja (Koipe, Andújar, España) y oliva

(Salgado S.A., Andújar, España). Se intercambiaron los carbohidratos por grasas en cantidades isocalóricas. Para prevenir la peroxidación, las dietas fueron preparadas mensualmente y almacenadas a 4 °C. La composición en ácidos grasos, tanto de la dieta estándar como de las experimentales, se muestra en la Tabla 1.

<i>Tabla 1</i> Composición en ácidos grasos de las dietas estándar y experimentales			
Ácidos grasos (g/100 g)	C	SS	SO
Palmítico (C16:0)	19,71	12,90	13,20
Estéarico (C18:0)	5,14	4,30	2,94
Palmitoleico (C16:1)			1,05
Oleico (C18:1)	28,46	25,30	61,70
Linoleico (C18:2)	46,65	51,70	20,90
Linoléico (C18:3)		5,60	
SFA	24,85	17,20	16,14
MUFA	28,46	25,30	62,75
PUFA	46,65	57,30	20,90
MUFA/SFA	1,14	1,47	3,86
PUFA/SFA	1,87	3,33	1,29

C = Dieta estándar; SS = Dieta estándar enriquecida con aceite de soja; SO = Dieta estándar enriquecida con aceite de oliva; SFA = ácidos grasos saturados; MUFA = ácidos grasos monoinsaturados; PUFA = ácidos grasos poliinsaturados.

A los tres meses de edad, entre las 10h y 12h, en una habitación adyacente a la que ocupaban en el animalario y con las mismas condiciones ambientales, los animales realizaron un test de campo abierto de 3 minutos de duración. El campo abierto consistía en un cuadrado de madera pintado de negro (116x16x41cm), dividido el piso mediante líneas blancas en 16 cuadrados iguales de 29cm. Se registraron los siguientes parámetros: a.- Conducta exploratoria: locomoción (deambulación «interna y externa») y postura erguida (rearing); b.- Conducta no exploratoria: latencia inicial (tiempo en segundos empleado en abandonar el cuadro central), postura de atención (freezing), aseo (grooming episodes), defecación

(si/no) y micción (si/no) (Salas y Cintra, 1979; Peters, 1986). El campo abierto se limpió con alcohol y se secó después de cada test.

Una vez finalizados los test los animales fueron pesados y medidos. Se les anesestió ligeramente con éter y se les extrajo sangre de la vena yugular. Todos los experimentos fueron realizados de acuerdo con las recomendaciones del «Guiding Principles for the Care and Use of Research Animals». El plasma fue almacenado a -20 °C. La glucosa, el colesterol total, los triglicéridos y las proteínas fueron medidos en el plasma mediante tests colorimétricos de la casa Boehringer Mannheim (Boehringer Mannheim S.A., Mannheim, Alemania). Posteriormente se extrajeron y se pesaron los siguientes órganos y glándulas: cerebro, hipófisis, adrenales, ovarios, la grasa de sustentación de los ovarios y un paquete muscular formado por: *flexor digitorum superficialis*, *soleus*, *extensor digitorum longus* y *extensor digitorum lateralis*. Este paquete muscular también fue medido.

Análisis estadístico: los resultados fueron analizados mediante un ANOVA, seguido de un test de Tukey para realizar las comparaciones entre los grupos. Se utilizó la χ^2 para el análisis de las proporciones.

Resultados

En la Tabla 2 se recogen algunos parámetros morfométricos registrados al final del período de rehabilitación nutricional. El peso corporal, la talla y la longitud del paquete muscular estudiado son significativamente superiores en los animales controles al compararlos con los experimentales. Los animales subnutridos tempranamente y rehabilitados con la dieta estándar muestran un peso y una talla significativamente inferior a los rehabilitados con la dieta enriquecida con aceite de soja.

El peso relativo del cerebro y de la hipófisis es inferior en los animales controles en relación a los tres grupos experimentales, mostrando el cerebro diferencias estadísticamente significativas con el grupo rehabilitado con aceite de oliva, mientras que los

Tabla 2							
Parámetros morfométricos de ratas hembras controles (C) y subnutridas tempranamente rehabilitadas con: dieta estándar (S), dieta estándar enriquecida con aceite de soja (SS) y dieta estándar enriquecida con aceite de oliva (SO)							
	C (15)	S (15)	SS (14)	SO (14)	F	p	Comparaciones significativas
Peso corporal (g)	254,5±4,4	217,9±3,91	238,0±4,93	229,2±6,42	10,02	0,001	C vs S; C vs SS C vs SO; S vs Ss
Longitud corporal (cm)	23,15±0,23	21,68±0,13	22,37±0,17	22,20±0,24	9,86	0,001	C vs S; C vs SS C vs SO; S vs Ss
Peso muscular * (g/100 g peso corporal)	0,31±0,008	0,31±0,006	0,31±0,006	0,31±0,009	0,00	N.S.	
Longitud muscular (cm)	2,79±0,04	2,60±0,04	2,50±0,03	2,48±0,03	15,89	0,001	C vs S; C vs SS C vs SO

Todos los valores se expresan como Media±Error estándar. Entre paréntesis figura el número de datos.
vs= versus; N.S.= estadísticamente no significativa
* Paquete muscular formado por: *flexor digitorum superficialis*+*soleus*+*extensor digitorum longus*+*extensor digitorum lateralis*

valores de la hipófisis son significativamente inferiores al compararlos con los tres grupos experimentales (Tabla 3). En los animales rehabilitados con las dietas enriquecidas con aceites el peso relativo de los ovarios es significativamente inferior, mientras que el peso de la grasa de sustentación de los ovarios es significativamente superior al com-

pararlo con los animales controles y rehabilitados con la dieta estándar.

Los valores de los parámetros bioquímicos analizados en los animales controles y experimentales se reflejan en la Tabla 4. En los animales alimentados con las dietas enriquecidas con aceites los niveles de triglicéridos en plasma se muestran significativa-

Tabla 3

Efectos rehabilitadores de dietas enriquecidas con aceites (soja y oliva) sobre el peso relativo de varios órganos en ratas hembras controles y subnutridas tempranamente

	C (15)	S (15)	SS (14)	SO (14)	F	p	Comparaciones significativas
Cerebro (g/100 g peso corporal)	0,70±0,03	0,76±0,01	0,75±0,02	0,81±0,03	3,56	0,020	C vs SO
Hipófisis (mg/100 g peso corporal)	4,98±0,17	6,48±0,34	6,52±0,42	6,12±0,39	4,6	0,006	C vs S; C vs SS C vs SO
Glándulas adrenales (mg/100 g peso c.)	26,67±1,10	28,18±1,47	29,80±1,10	25,29±0,99	2,6	N.S.	
Ovarios (mg/100 g peso corporal)	42,30±2,07	49,00±2,30	34,20±1,73	36,50±2,44	9,45	0,001	C vs S; C vs SS S vs SS; S vs SO
Grasa ovárica (g/100 g peso corporal)	0,73±0,04	0,79±0,04	0,96±0,05	0,95±0,04	7,34	0,001	C vs SS; C vs SO S vs SS; S vs So

Todos los valores se expresan como Media±Error estándar. Entre paréntesis figura el número de datos.
vs= versus; N.S.= estadísticamente no significativa
C= Controles comiendo dieta estándar; S= Subnutridas comiendo dieta estándar; SS= Subnutridas comiendo dieta estándar enriquecida con aceite de soja; SO= Subnutridas comiendo dieta estándar enriquecida con aceite de oliva

Tabla 4

Parámetros bioquímicos en ratas hembras controles (C) y subnutridas tempranamente rehabilitadas con: dieta estándar (S), dieta estándar enriquecida con aceite de soja (SS) y dieta estándar enriquecida con aceite de oliva (SO)

	C (15)	S (15)	SS (14)	SO (14)	F	p	Comparaciones significativas
Glucosa (mg/dl)	156,20±2,80	167,10±9,09	159,00±3,81	168,50±4,05	1,16	N.S.	
Proteínas (g/dl)	5,37±0,11	5,56±0,12	5,80±0,12	5,76±0,25	1,58	N.S.	
Triglicéridos (mg/dl)	23,38±2,58	25,29±3,69	39,84±3,94	40,08±2,90	7,45	0,001	C vs SS; C vs SO S vs SS; S vs SO
Colesterol (mg/dl)	66,18±3,96	61,45±3,57	66,55±4,71	69,46±7,05	0,45	N.S.	

Todos los valores se expresan como Media±Error estándar. Entre paréntesis figura el número de datos.
vs= versus; N.S.= estadísticamente no significativa

mente superiores al compararlos con los otros dos grupos.

En la Tabla 5 se presentan los parámetros analizados en el campo abierto. Se han encontrado algunas diferencias estadísticamente significativas en varios parámetros, tales como: la deambulaci3n externa (superior en los animales rehabilitados con aceites frente a los controles y los rehabilitados con la dieta estándar), la postura de atenci3n (inferior en los animales rehabilitados con aceites frente a los otros dos grupos) y la postura erguida (superior en los animales rehabilitados con aceite de oliva frente a los grupos control y estándar).

El porcentaje de animales que realizan defecaci3n y micci3n en los distintos grupos estudiados no muestra diferencias estadísticamente significativas. Defecaci3n: C= 13,33% (13no-2si); S= 13,33% (13no-2si); SS= 14,28% (12no-2si); SO= 14,28% (12no-2si). Micci3n: C= 20% (12no-3si); S= 20% (12no-3si); SS= 21,42% (11no-3si); SO= 0,0% (14no-0si).

Discusi3n

Las dietas enriquecidas en aceites utilizadas en este modelo de rehabilitaci3n no normalizan ni el peso ni la talla de las ratas hembras malnutridas tempranamente (Tabla 2). El hecho de que un animal alcance su tamaño corporal determinado genéticamente, depende del momento del desarrollo en el que la privaci3n es introducida y de su grado y duraci3n (McCance, 1976). En nuestro modelo experimental la privaci3n ocurre durante un período crítico (la preñez y la lactancia), especialmente para el cerebro, en el desarrollo de la rata. El período crítico es un momento particular del desarrollo, durante el cual una agresión ejerce un efecto más marcado. No está simplemente asociado con momentos de crecimiento rápido y/o ganancia de peso cerebral, más bien deberíamos hablar de múltiples períodos críticos según las áreas cerebrales, cuando la neurogénesis, la gliogénesis o la emigraci3n neuronal se están produciendo (Morgane, Austin-La France, Brozino, Tonkiss y Ga-

Tabla 5
Efectos rehabilitadores de dietas enriquecidas con aceites (soja y oliva) sobre algunos parámetros del campo abierto en ratas hembras controles y subnutridas tempranamente

	C (15)	S (15)	SS (14)	SO (14)	F	p	Comparaciones significativas
Latencia inicial (s)	8,03±3,80	7,34±2,25	4,80±0,80	10,20±2,06	0,75	N.S.	
Freezings (s)	19,15±4,90	23,79±5,00	0,00±0,00	0,00±0,00	11,96	0,001	C vs SS; C vs SO S vs SS; S vs SO
Rearings	2,69±0,48	2,45±0,50	3,80±0,71	5,20±0,62	4,67	0,006	C vs SO; S vs SO
Grooming Episodes	0,84±0,20	1,02±0,30	0,50±0,26	0,33±0,16	1,74	N.S.	
LOCOMOTION: Central line crossings	2,72±1,20	3,89±0,60	4,81±0,84	3,50±0,67	0,94	N.S.	
Peripheral line crossings	17,70±2,95	17,23±2,80	31,80±3,56	23,07±2,79	4,94	0,004	C vs SS; S vs SS SS vs SO

Todos los valores se expresan como Media±Error estándar. Entre paréntesis figura el número de datos.
vs= versus; N.S.= estadísticamente no significativa
C= Controles comiendo dieta estándar; S= Subnutridas comiendo dieta estándar; SS= Subnutridas comiendo dieta estándar enriquecida con aceite de soja; SO= Subnutridas comiendo dieta estándar enriquecida con aceite de oliva

ller, 1992). Consecuentemente es lógico que estos animales no adquieran el tamaño corporal de los controles. Sin embargo, el peso relativo del cerebro y de la hipófisis de los animales malnutridos tempranamente parece indicar una recuperación mayor de la esperada (Tabla 3). Es decir, en relación a su tamaño corporal, estos órganos en los animales experimentales se han desarrollado más de lo que les correspondía. Resultados similares los hemos encontrado en ratas machos a los 30 y 150 días de edad con el mismo diseño experimental (Fernández, Ordás, Gutiérrez, González, Fernández y Menéndez-Patterson, 1993, Fernández, González y Menéndez-Patterson, 1997).

En este sentido, una variedad de estudios con modelos animales en los que se aplicó la malnutrición temprana habían demostrado el fenómeno de «brain sparing» («economía cerebral») que indica cómo durante la malnutrición temprana el crecimiento cerebral se ve menos afectado que el del resto del organismo (Forbes, Tracy, Resnick y Morgane, 1977). Sin embargo, de acuerdo con Morgane et al, 1992, pensamos que las lesiones que produce la malnutrición afectan más al desarrollo coordinado de varios tipos de células y con ello, a la formación de circuitos neuronales y al sistema de activación de la neurotransmisión que al peso cerebral en sí mismo.

Con relación a los parámetros bioquímicos (Tabla 4) solamente los niveles de triglicéridos se encuentran elevados en los animales alimentados con las dietas enriquecidas en aceites, lo cual es lógico ya que este parámetro se halla fuertemente influenciado por el contenido lipídico de la ingesta inmediata (Linder, 1988). La mayor disponibilidad de triglicéridos sanguíneos explicaría, hasta cierto punto, el incremento de grasa ovárica (Tabla 3) que hemos encontrado en estos animales (Linder, 1988).

Los resultados del campo abierto (Tabla 5) registrados en el presente estudio, sugieren que en las hembras subnutridas la dieta

estándar ha sido capaz de normalizar los parámetros estudiados, ya que su comportamiento es muy similar al de los controles. Datos semejantes han sido encontrados en machos a los 5 meses de edad (Fernández et al, 1997), aunque se valoraron menos parámetros (tiempo en el centro, deambulación externa y postura enguida).

Nuestros datos sugieren que la disponibilidad de diferentes ácidos grasos durante la rehabilitación temprana de la subnutrición «in utero» y durante la lactancia, e incluso durante la vida adulta (Wainwright, 1992), puede tener efectos importantes en la conducta de la rata hembra. En este sentido, los animales rehabilitados con aceites muestran un comportamiento diferente (Tabla 5), ya que su conducta exploratoria se encuentra incrementada. Este aumento de la actividad motora espontánea ha sido propuesto para reflejar la reactividad emocional del animal a un ambiente nuevo, lo cual puede ser debido a cambios en la percepción sensorial o a modificaciones del sistema neural que regulan la conducta emocional (Enslin, Milon y Malnoë, 1991). Debemos de tener en cuenta la distinta composición en ácidos grasos, sobre todo oleico, linoleico y linolénico, de las tres dietas empleadas en la rehabilitación, ya que se ha demostrado (Okayuma, 1992; Greenwood y Winocur, 1990) que cambios en la composición de ácidos grasos dietarios van acompañados de modificaciones en la conducta, puesto que existe una correlación directa y positiva entre las cantidades de estos ácidos grasos suministradas en la dieta y la composición en PUFA del cerebro (Enslin, Milon y Malnoë, 1991).

En la actualidad, el mecanismo por el cual los aceites vegetales dietarios afectan los parámetros conductuales, todavía no ha sido resuelto totalmente. Sin embargo, nuestros resultados parecen indicar que los alimentos elegidos en nuestra dieta pueden afectar a la conducta de los mamíferos a través del balance de ácidos grasos esenciales.

Referencias

- Brenner, R, R, (1984). Effect of insaturated acids on membrane structure and enzyme kinetics. *Progress, Lipids and Research*, 23, 69-96.
- Chung-Ja, M, and William, O, H, (1986). Growth and fatty acid metabolism in experimental intrauterine growth retardation: effect of postnatal nutrition in rat. *Journal of Nutrition*, 116, 1080-1087.
- Enslin, M, Milon, H, and Malnoë, A, (1991). Effect of low intake of n-3 fatty acids during development on brain phospholipid fatty acid composition and exploratory behavior in rats. *Lipids*, 26,203-208.
- Essien, E, U, and Marshall, M, W, (1983). The development of rat models of undernutrition with special references to the essential fatty acids. *Nutrition Research*, 3, 855-864.
- Fernández, A, Ordás, I, Gutiérrez, J, M, González, C, Fernández, S, and Menéndez-Patterson, A, (1993). The rehabilitation of malnourished rats at the end of the lactation period with two different sources of dietary lipids: soybean and olive oil. *Nutrition Life Science Advances*, 12, 79-88.
- Fernández, S, González, C, and Menéndez-Patterson, A, (1997). Oil enriched diets and behavioral parameters in rat's recovery from early undernutrition. *Physiology and Behavior*, 62(1), 113-119.
- Fernández-Fernández, S, Alvarez-Ordás, I, Gutiérrez, J, M, Marín, B, and Menéndez-Patterson, A, (1986). Influence of malnutrition during gestation and suckling on reproductive function and sexual behavior in rats. *Nutrition Research*, 6, 517-526.
- Forbes, W,B, Tracy, C, Resnick, O, and Morgane, P, J, (1977). Effects of maternal dietary protein restriction on growth of the brain and body in the rat. *Brain Research Bulletin*, 2,131-135.
- González-Pardo, H, Gutiérrez-Sánchez, J, M, Menéndez-Patterson, A, and Arias, J, L, (1994). Postnatal development of argyrophilic nucleolar organizer regions in the mammillary body of undernourished rats. *Brain Research*, 654, 75-80.
- González-Pardo, H, Cuesta, M, Menéndez-Patterson, A, and Arias, J,L, (1997). Undernutrition and postnatal development of transcriptional activity in the rat medial mammillary nucleus (Hypothalamus). *Nutrition Research*, 17(8), 1285-1292.
- Greenwood, C, E, and Winocur, G, (1990). Learning and memory impairment in rats fed a high saturated fat diet. *Behavioral and Neural Biology*, 53, 74-87.
- Hill, E, G, and Holman, R, T, (1980). The effect of dietary protein level upon essential fatty acid (EFA) deficiency. *Journal of Nutrition*, 110, 1057-1060.
- Koletzko, B, Abiodun, P, O, Laryea, M, D, and Bremer, H, J, (1986). Fatty acid composition of plasma lipids in Nigerian Children with protein-energy undernutrition. *European Journal of Pediatrics*, 145, 109-115.
- Linder, M, C, (1988). Nutrición y Metabolismo de las grasas. En: M,C, Linder (ed) *Nutrición aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos*, (pp, 61-78); Eunsa Navarra.
- McCance, R, A, (1976). Critical periods of growth. *Proceedings of Nutrition Society*, 35, 309-313.
- McKenna, M, and Champagnon, A, T, (1979). Effect of pre and postnatal essential fatty acid deficiency on brain development and myelination. *Journal of Nutrition*, 109, 1195-1198.
- Menéndez-Patterson, A, Menéndez, E, Fernández, S, Fernández, M, and Marín B, (1985). Influence of undernutrition during gestation and suckling on the development and maturity sexual in the rat. *Journal of Nutrition*, 115, 1025-1032.
- Mohan, P, F, and Rao, B, S, N, (1983). Adaptation to underfeeding in growing rats, Effect of energy restriction at two dietary protein levels on growth, feeding efficiency, basal metabolism and body composition. *Journal of Nutrition*, 113, 79-85.
- Morgane, P,J, Austin-La France, R, Brozino, J, Tonkiss, J, and Galler, J, (1992). Malnutrition and developing central nervous system. En: R, Isaacson, K,F, Jensen (eds). *The vulnerable brain and enviromental risks, Vol I: Malnutrition and hazard assesment*, (pp, 3-43); New york; Plenum Press.
- Okuyama, H, (1992). Minimum requirements of n-3 and n-6 essential fatty acids for the function of the Central Nervous System and for the prevention of chronic disease. *Psychology*

- Society for Experimental Biology and Medicine*, 200, 174-176.
- Peters, D, A, V, (1986). Prenatal stress increases the behavioral response to serotonin agonists and alters open field behavior in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 25, 873-877.
- Ruthrich, H,L, Hoffman, P, and Mathie, S, (1984). Perinatal linoleate deprivation impairs learning and memory in adult rats. *Behavioral, Neurology and Biology*, 40, 205-208.
- Salas, M, and Cintra, L, (1979). Undernutrition and novelty responses influence of early food restriction on the responsiveness to novel stimuli in adult rats. *Boletín de Estudios Médicos y Biológicos, Mexico*, 30, 201-204.
- Spring, B, (1986). Effects of food and nutrients on the behavior of normal individuals. En: R,J, Wurtman, J,J, Wurtman (eds.): *Nutrition and the Brain*, (pp,1-47), New York; Raven.
- Wainwright, P, E, (1992). Do essential fatty acids play a role in brain and behavior development? *Neuroscience Biobehavioral Research*, 6, 193-205.
- Zeisel, G, S, (1986). Dietary influences on neurotransmission. *Advances in Pediatrics*, 33, 23-47.

Aceptado el 14 de enero de 1998

